

歯磨剤使用条件下での各種歯ブラシによる刷掃が象牙質に与える影響

鹿児島大学学術研究院 歯学域歯学系 歯科保存学分野

○勝俣 環, 三浦太聖, 西谷登美子, 永山祥子, 勝俣愛一郎, 星加知宏, 西谷佳浩

The effects of brushing with various toothbrushes on dentin under toothpaste conditions

Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Research Field in Dentistry,
Medical and Dental Sciences Area, Research and Education Assembly, Kagoshima University

○KATSUMATA Tamaki, MIURA Taisei, NISHITANI Tomiko, NAGAYAMA Shoko,
KATSUMATA Aiichiro, HOSHIKA Tomohiro, NISHITANI Yoshihiro

【研究目的】

超高齢社会において、手指の動きがあまり重要とされずに高い清掃性を有する電動歯ブラシは今後需要が増加すると考えられる。誤ったブラッシング方法により、歯面の摩耗、くさび状欠損、歯肉退縮や象牙質知覚過敏症の蜂起などが懸念されることから、現在市販されている電動歯ブラシの生体硬組織への影響についての知見を得ることは大変有意義である。我々は、第 162 回日本歯科保存学会学術大会にて、歯磨剤を使用しない条件下での電動歯ブラシの使用に関しては歯面の摩耗は極めて少ないことを報告した。今回は新たに歯磨剤を使用する条件下での刷掃が象牙質に与える影響について、手用歯ブラシとの比較検討を行った。

【材料及び方法】

被験電動歯ブラシとして、ドルツ (EW-DP57-S, パナソニック)、ソニックアー (プロテクトクリーン, PHILIPS)、オーラル B (i06, P&G ジャパン)、手用歯ブラシとしてクリニカアドバンテージ (レギュラー, ライオン) を使用した。ウシ抜去歯の歯冠部から $7 \times 7 \times 1$ mm の象牙質試料を切り出し、その表面を耐水研磨紙の #4,000 まで注水研磨して、これを象牙質試片とした。その後、試片を蒸留水に浸漬して、超音波洗浄を 20 分実施した。試片を試料台に固定して、歯磨剤 (Lightee ハミガキ, ライオン) を蒸留水にて質量比 2 倍希釈したもの、もしくは人工唾液 (サリベート, 帝人ファーマ) に浸漬し、各歯ブラシにてブラッシング圧 200g、ブラッシング角度を歯面に対して 90 度として、電動歯ブラシについては連続 20 分間、手用歯ブラシについては 6000 サイクルの歯ブラシ摩耗試験を行った。摩耗試験実施後の試片を乾燥して、レーザー顕微鏡 (VK-X3000, キーエンス) を用いて、中心付近 5 点について面の算術平均高さ Sa を測定し、その平均値を各試片の Sa 値とした。コントロールとして摩耗試験未実施の象牙質試片を使用した。Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks および Tukey 検定を用いて有意水準 5% の条件で統計学的分析を行った。また、表層 3D 画像を得ることにより、歯ブラシ摩耗試験後の試片の表面性状を観察した。

【結果】

歯磨剤未使用の場合、Sa 値はコントロール群 0.0683 ± 0.0153 、ドルツ群 0.1285 ± 0.0663 、ソニックアー群 0.1353 ± 0.053 、オーラル B 群 0.1216 ± 0.0302 、手用歯ブラシ群 0.108 ± 0.0463 であった。コントロール群とドルツ群、ソニックアー群、オーラル B 群との間には有意差が認められたが、各被験歯ブラシ間に有意差は認めなかった。歯磨剤使用の場合、ドルツ群 0.2076 ± 0.129 、ソニックアー群 0.179 ± 0.0683 、オーラル B 群 0.2651 ± 0.425 、手用歯ブラシ群 2.161 ± 1.159 であった。手用歯ブラシ群とコントロール群、ドルツ群、ソニックアー群、オーラル B 群との間には有意差が認められた。さらに、各被験歯ブラシ群を歯磨剤使用の有無で各々比較したところ、手用歯ブラシ群では歯磨剤使用の場合に Sa 値は有意に増加し、各電動歯ブラシはいずれも歯磨剤の有無では有意差を示さなかったが増加傾向を認めた。歯磨剤使用の場合の 3D 画像を観察したところ、ドルツ群では限局した浅い凹部位が観察され、細く浅い条痕が一部みられた。ソニックアー群では限局した浅い凹部位のみ観察された。オーラル B 群では深さが様々の条痕が散見され、部位によっては広い範囲で凹面が観察された。手用歯ブラシ群では規則的な縞模様をなす深い条痕が一面に観察された。

【考察および結論】

今回検討した被験歯ブラシでは、歯磨剤を使用しない場合はいずれの被験ブラシでも摩耗性は低く、製品間での有意な差はなかった。しかし、歯磨剤を使用した場合ではいずれの製品も摩耗性が増加する傾向があり、特に手用ブラシでは他製品と比較して歯磨剤内の研磨剤の影響を大きく受け、有意に摩耗性が高かった。今後は電動歯ブラシに適した歯磨剤の条件の探索を検討している。

電動歯ブラシによる人工プラーク除去効果の検討

北海道医療大学歯学部 口腔機能修復・再建学系う蝕制御治療学分野
○松田康裕, 泉川昌宣, 齋藤隆史

Evaluation of Artificial Plaque Removal Effectiveness by Electric Toothbrushes

Health Sciences University of Hokkaido Graduate School of Dentistry,
Division of Clinical Cariology and Endodontology
○MATSUDA Yasuhiro, IZUMIKAWA Masanobu, SAITO Takashi

【緒言】

齧蝕好発部位である小窩裂溝や隣接面は、狭窄した形態を呈し、清掃困難な部位である。これら部位における効率的なプラーク除去は、齧蝕予防において重要な課題である。電動歯ブラシは多種多様な駆動方式により高い清掃効率が期待されるが、複雑な歯面形態における清掃能を定量的に比較した研究は少ない。本研究では、微細な陥凹が規則的に配置された規格化模型を用い、電動歯ブラシの機種およびブラッシング圧が部位別プラーク残存率に及ぼす影響を検討した。

【材料と方法】

評価対象として、ドルツ (パナソニック, DT)、オーラル B (P&G, OB)、ソニックアー (フィリップス, SC)、クラブ ロックス (クラデンジャパン, CURA) の 4 機種を用いた。模型には、規則的な微細陥凹および突起を有する歯石除去練習用模型 (PER1023-T-HDI, ニッシン) を採用し、対象面が水平になるようモールドを作製した。歯ブラシはヘッドが水平になるようホルダーに固定し、ラボジャッキ上に設置した電子天秤に模型を載せることでブラッシング圧を一定に保持した。人工プラーク塗布後、50g、100g、200g の各荷重条件下で 5 秒間のブラッシングを行い、遊離したプラークをエアにて除去した。清掃後の模型表面をデジタルカメラ (D-5100) にて撮影し、画像編集ソフト (Photoshop Elements) を用いて各群の画像を重ね合わせ、解析領域を抽出した。解析領域は、模型正面の中央領域 (3 領域)、その垂直方向に位置する上下領域 (4 領域)、側方曲面領域 (4 領域)、およびブラシの到達が最も困難な最遠心領域 (4 領域) の計 15 領域とし、部位別に 4 群に分類した。ImageJ を用いて各領域のプラーク残存率 (%) を算出し、SPSS を用いて圧力条件および部位ごとに機種差を一元配置分散分析で検討し、Tukey 法で多重比較した (各条件 n=8)。

【結果】

すべての解析条件において、機種間で残存率に有意差が認められた。機種別では全体として DT が最も低い残存率を示したが、荷重の増加に伴い、DT と他機種との数値的な差は縮小する傾向が確認された。低荷重 (50g) 条件において、中央領域、側方曲面領域、最遠心領域では DT が単独で有意に低い残存率を示し、他機種との性能差が顕著であった。一方、上下の領域においては、50g および 100g 荷重時に DT と OB の間に有意差が認められず、同程度の清掃効果が示唆された。また、低荷重時の最遠心領域では DT を除く 3 機種 (SC, OB, CURA) の間で有意差が認められず、いずれも残存率が高い傾向にあった。荷重を 200g まで増加させると全機種で残存率が低下し、機種間の性能差は低荷重時と比較して相対的に緩和される傾向が認められた。

【結論】

ブラッシング圧の増加に伴い機種間の清掃効果の差は縮小する傾向が認められたが、いずれの荷重条件下においてもドルツ (DT) が微細陥凹部に対し最も高いプラーク除去効果を示した。今後は、不規則な歯列や頬粘膜の干渉など、より複雑な口腔内環境を想定した検討を進める必要がある。

各種電動歯ブラシのプラーク除去効率に関する研究 —とくにブラッシング時の付加荷重の影響について—

¹ 日本大学歯学部保存学教室修復学講座, ² 日野浦歯科医院
○村山良介¹, 青木良太¹, 横山宗典¹, 宮崎真至¹, 高見澤俊樹¹, 日野浦光^{1,2}

A Study on the Plaque Removal Capabilities of Various Electric Toothbrushes —The Effect of Additional Load During Brushing—

¹ Department of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry, ² Hinoura Dental Clinic
○MURAYAMA Ryosuke¹, AOKI Ryota¹, YOKOYAMA Munenori¹,
MIYAZAKI Masashi¹, TAKAMIZAWA Toshiki¹, HINOURA Ko^{1,2}.

【研究目的】

近年、歯科疾患を未然に防ぎ、口腔における健康を維持するとともに増進するという、予防歯科の実践が喧伝されている。齲蝕あるいは歯周疾患は、多因子性疾患であるとともに生活習慣との関連性も高いとされている。これらの疾患を予防するうえで、歯科医院におけるプロフェッショナルケアとともに、患者自身が行うセルフケアとしての口腔内清掃が重要なものとなる。とくにセルフケアは、毎日の生活の中に取り入れられ、口腔内の健康を保つためには重要となるものであり、これに用いられる歯ブラシなどのホームケア製品の選択も重要となる。ホームケア製品のうちでも、電動歯ブラシは、毎日のブラッシングの質を高めるとともに、歯面に付着したプラークの除去効果が高いとされていることから、多くのメーカーから振動形式やブラシの形状の異なる製品が市販されている。しかし、異なるメーカーの電動歯ブラシを使用した際のプラーク除去効果については不明な点が多いのが現状である。そこで、本研究では代表的な電動歯ブラシ4種類を使用し、ブラッシング時の付加荷重がプラーク除去効率に及ぼす影響について検討を加えた。

【材料および方法】

電動歯ブラシとして、Doltz (D,EW-DT88, Panasonic), Sonicare (S,Sonicare DiamondClean Smart, Philips), Oral B (O,iO, Braun) および Curaprox (C,Hydrosonic Pro) の4製品を用いた。疑似エナメル質として、ステンレス板 (SUS304, E群) および擬似象牙質としてアクリル板 (D群) を用いて、表面が正常であることを確認した後に人工プラーク (ニッシン) を塗布し、これを被ブラッシング試片とした。なお、除去対象となる人工プラークの塗布領域の設定は、各電動歯ブラシのヘッド形状を実寸し、その形状に対して外周を3mm拡張したものとした。人工プラークの塗布は、エアブラシを用いてこれを噴霧することによって、その厚さを均一にした。これらの試片に対し、ブラシヘッドが試片表面と平行になるように接触させた状態で10秒間ブラッシングを行った。ブラッシング時の荷重は、治具を用いることによって100gfあるいは200gfの2条件とした。人工プラーク除去率の測定は、除去前および除去後の試片をデジタルカメラで撮影し、画像解析ソフト (Image J, NIH) を用いることで、それぞれの面積率の差から算出した。

【成績および考察】

E群における荷重100gf及び200gfの除去率はD>S>O>Cとなった。またD群では荷重100gf下ではD>S>O>Cであったのに対し、200gf下ではS>D>O>Cであった。エナメル質、象牙質の表面を想定した人工プラーク除去率は、ブラッシング時の荷重が大きくなるのに伴って上昇する傾向を示した。このことは、プラーク除去の際は適切な負荷が必要であることを示すものであり、これによって歯面に接するブラシ面積が大きくなったためと考えられた。しかし、ブラシ先端形状が突起やアーチ状の場合、平板状での接地状態を確保することが困難であり、荷重を増加させることによる平面への到達性は限界がある。

【結論】

本研究の結果から、電動歯ブラシの使用時の荷重は、プラーク除去効率に影響を及ぼすことが示された。今後、電動歯ブラシの特徴に着目した検討も必要であるものと考えられた。

プロポリス成分アルテピリンC (Art-C) およびカフェイン酸フェネチルエステル (CAPE) の歯髄治療薬としての可能性について

1. 朝日大 歯 保存、2. 朝日大 保健医療 化学 3. 朝日大 歯 口外、
4. 秋田屋本店 研究開発部、5. 朝日大 歯 化学
○ラハマン シィファ¹、鶴田 はねみ¹、神谷-水野 真子²、高橋 萌³、池野 久美子⁴、
中村 源次郎⁴、近藤 信夫⁵、奥山克史¹

Possible use of propolis constituents, artepillin C (Art-C) and caffeic acid phenethyl ester (CAPE), as the remedies for dental pulp treatment

1. Dept Operative Dentistry, Asahi Univ Sch Dent, 2. Chem Lab, Asahi Univ Sch Health Sci,
3. Dept Oral Surg, Asahi Univ Sch Dent, 4. AKITAYA HONTEN CO., LTD. R&D Department,
5. Chem Lab, Asahi Univ Sch Dent
○Shifa Rahman¹, Hanemi Tsuruta¹, Moe Takahashi², Masako Kamiya-Mizuno³, Kumiko Ikeno⁴,
Genjirou Nakamura³, Nobuo Kondoh⁵, Katsushi Okuyama¹

【緒言】

プロポリスは口腔の軟組織における炎症を抑え、治療効果を高めることが既に報告されている。我々は既に、中国産プロポリス (CP) の主要成分であるカフェイン酸フェネチルエステル (CAPE) が抗 CD3 抗体刺激マウス脾細胞に対して IL-2 を介して IL-4 および IL-10 産生を促進していること (Takahashi M, 2024) および、ブラジル産グリーンプロポリス (BGP) の主要成分であるアルテピリンC (Art-C) も同様に刺激脾細胞の IL-2 産生を促進すること (Tsuruta H, 2022) を突き止め、歯髄治療薬として消炎を促進する可能性を見出している。そこで我々は、CAPE および Art-C による刺激脾細胞の IL-4、IL-10、IL-5、IL-13 を含む Th2 および他の炎症性サイトカイン制御を比較し、IL-2 の役割について検討した。

【材料と方法】

ヒト由来歯髄細胞 (DP002) および、C3H 雄マウス由来脾細胞を用いた。所定の方法により採取したマウス脾細胞を抗 CD3 抗体 (R&D systems) で刺激し、培養上清を用いて ELISA 法 (BD Biosciences) により各種サイトカイン産生を測定した。また、IL-2 の機能を抗 IL-2 中和抗体 (R&D systems) で検討した。

【結果】

CAPE および Art-C は刺激脾細胞の IL-2 産生を促進した。刺激脾細胞の Th2 サイトカイン (IL-4, IL-10, IL-5, IL-13) 産生はすべて抗 IL-2 中和抗体で部分的に抑制され、それらの産生が部分的に IL-2 に依存して引き起こされていることが示された。このうち IL-4 産生は、CAPE および Art-C により IL-2 を介して産生が促進されることが示された。一方、刺激脾細胞の IL-5 および IL-13 の産生は、IL-2 を介さない機構により CAPE および Art-C によって抑制された。これに対して、他の炎症性サイトカイン IFN- γ や IL-6 の産生は IL-2 の影響を受けず、CAPE および Art-C により顕著に抑制された。

【結論】

今回の検討で、刺激脾細胞の Th2 サイトカインは部分的に IL-2 を介して促進されることが判明した。CAPE および Art-C は部分的に IL-2 を介して、抑制性サイトカインである IL-4 を促進することが示唆された。一方、IL-5、IL-13 やそのほかの炎症性サイトカインである IFN- γ および IL-6 産生は、これらの成分で IL-2 を介さない特異的な機構により抑制されることから、歯髄治療薬として消炎を促進する可能性が示唆された。

シェーグレン病患者の制御性 T 細胞に特徴的な非翻訳長鎖 RNA の同定

○小山光那¹⁾, 池田淳史²⁾, 清水由梨香⁴⁾, 伊藤達男⁴⁾, 大森一弘³⁾, 高柴正悟³⁾

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 学術研究院医療開発領域 歯科・歯周科部門
³⁾ 岡山大学 学術研究院医歯薬学域 歯周病態学分野, ⁴⁾ 川崎医科大学 医学部 応用医学 衛生学

Identification of long non-coding RNA characteristic of regulatory T cells from patients with Sjögren's disease

○KOYAMA Mina¹⁾, IKEDA Atsushi²⁾, SHIMIZU Yurika⁴⁾, ITO Tatsuo⁴⁾, OMORI Kazuhiro³⁾, TAKASHIBA Shogo³⁾

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

【緒言】

シェーグレン病 (Sjögren's disease: SjD) は、唾液腺や涙腺などの外分泌腺に生じる炎症性自己免疫疾患で、その病型は他の膠原病との合併の有無で原発性 (primary) と関連性 (associated) に大別される。口腔内では、唾液分泌能の低下により、う蝕をはじめとする口腔感染症が生じる。さらに、摂食嚥下障害や舌痛症を呈することもあり、栄養摂取量の減少による QOL の低下が社会的な問題である。SjD の病態には、樹状細胞、T 細胞、そして B 細胞の異常活性化に加え、免疫寛容の維持に重要な制御性 T 細胞 (regulatory T cell: Treg) の機能異常が関与すると考えられている。Treg の分化・機能は、エピジェネティクスの機構により制御されており、近年では非翻訳長鎖 RNA (long non-coding RNA: lncRNA) の関与が注目されている。しかし、SjD における Treg と lncRNA の関与については未だ不明な点が多い。そこで本研究では、SjD 患者の Treg に特徴的な lncRNA の同定を目的とした。

【材料と方法】

原発性 SjD 患者および健常ボランティア (Healthy) 各 3 名の末梢血から、Ficoll-Paque を用いた密度勾配遠心法で単核球を分離し、フローサイトメトリーにて CD4⁺CD25⁺CD127^{low} Treg を分取した。分取した細胞群における lncRNA および mRNA の発現を、Bulk RNA-seq 解析により網羅的に評価した。DESeq2 を用いて Padj < 0.05 かつ fold change ≥ 2 を有意な発現変動の基準として発現変動遺伝子を同定した。さらに、Metascape を用いた細胞タイプングネチャー解析および転写因子標的遺伝子解析により、lncRNA と転写制御ネットワークとの関連性を検討した。本研究は、岡山大学生命倫理審査委員会の承認を得ている。(岡山大学生命倫理審査: 研 2208-066)

【結果】

SjD 群と Healthy 群との間で、末梢血 T 細胞中における CD4⁺CD25⁺CD127^{low} Treg の割合に有意差は認められなかった。SjD 群の Treg において、発現が有意に変動していた lncRNA は 14 種類 (発現上昇遺伝子 5 種類, 発現低下遺伝子 9 種類), mRNA は 240 種類 (発現上昇遺伝子 105 種類, 発現低下遺伝子 135 種類) であった。

細胞タイプングネチャー解析では、これらの遺伝子群が、胸腺細胞や骨髄ナイーブ T 細胞と関連しており、解析対象が適切な Treg 集団であることが確認された。転写因子標的遺伝子解析では、発現が上昇した lncRNA 群は免疫活性化に、発現が低下した lncRNA 群は免疫抑制と恒常性維持に関連していた。さらに SjD 群では、免疫応答やサイトカインシグナル伝達に関与する mRNA 群の発現が上昇した一方、免疫抑制に関与する mRNA 群の発現が低下していた。

【考察】

本研究では、SjD 患者由来 Treg において、lncRNA および mRNA の双方に顕著な発現変動が認められた一方、末梢血中 Treg の割合には有意差が認められなかった。このことから、SjD における Treg 異常は量的変化ではなく、質的な機能変化として生じている可能性が示唆される。

転写因子標的遺伝子解析の結果、発現が上昇した lncRNA 群は、免疫応答やサイトカインシグナル伝達に関与する転写因子の標的遺伝子と関連しており、SjD 群 Treg では IL6ST や TNFAIP8 などの炎症関連 mRNA の発現上昇も認められた。一方、発現が低下した lncRNA 群は、MEF2C や SOX3 など、免疫抑制や細胞恒常性維持に関与する転写因子の標的遺伝子と関連しており、CXCR4 や IL2RG といった免疫抑制関連 mRNA の発現低下を伴っていた。

通常、Treg は低代謝・低翻訳状態を維持することで、免疫抑制機能を安定的に発揮すると考えられている。これに対し SjD 患者の Treg では、炎症応答を促進する転写制御の亢進と、免疫抑制・恒常性維持に関わる転写制御の減弱が同時に進行しており、Treg 内の転写ネットワークのバランスが破綻している可能性がある。

【今後の展望】

本研究は、SjD 患者由来 Treg における lncRNA 発現異常を網羅的に同定した点に意義がある一方、発現解析に基づく関連性の評価にとどまっている。今後は、発現異常を示した lncRNA を対象に CRISPR-Cas9 を用いた機能解析を行い、Treg の分化・安定性および免疫抑制機能に及ぼす影響を検証することで、SjD における Treg 機能異常の分子基盤の解明と、新規治療標的としての可能性を検討していく予定である。

【結論】

SjD 患者の Treg において 14 種類の lncRNA が有意に発現変動しており、その内 5 種類が発現上昇、9 種類が発現低下していた。これらの lncRNA 発現異常は、SjD における Treg 機能異常の分子基盤の一端を示すものである。

コンポジットレジンによる直接修復の臨床報告

オーラルステーションデンタルクリニック
○山田 満憲

Clinical Report of Direct Composite Resin Restoration

Oral-Station Dental Clinic
○YAMADA Mitsunori

【諸言】

著者は、MI テクニックによるコンポジットレジン (以下、CR) 直接修復は、患者負担の軽減および機能性と審美性を兼ね備えた解剖学的形態の回復を得る有効な手段であり、さらに隔壁法を併用した CR 直接修復は、修復後早期の咬耗および脱離を回避し隣接歯との適切な接触関係の回復が可能であると臨床報告してきた。また、近年の金銀パラジウム合金をはじめとする歯科用金属材料の価格高騰および物価高騰に伴う技工料金の上昇により、金属を用いた間接修復から CR 直接修復への期待はさらに大きくなっている。しかし、隣接歯との接触関係が維持されていない歯に対する CR 直接修復では、ウェッジ等を用いた歯間分離が通法とされてきたが、歯間分離量の精密な制御が困難であることに加え、臨床的には術中や術後の疼痛を訴える患者も少なくないことから、適切な接触関係を再現することは技術的に容易ではないと考えられてきた。そこで今回、患者負担の軽減と適切な接触点の回復を目的とした MI テクニックのアップデートとして、ストリップスの接触点相当部位に穿孔 (以下、パンチ) を施す隔壁法を考案し、良好な結果を得たのでその概要を報告する。

【対象および方法】

う蝕症状を主訴とし来院した患者のうち、隣接歯との接触関係が維持されていない歯を対象とした。対象者には、ヘルシンキ宣言に基づく主旨説明を含むインフォームドコンセントを行い、さらに個人が特定されないよう配慮した。う蝕治療ガイドラインに準じ感染歯質を除去後、2ステップボンドシステムを使用した。隣接面への隔壁器具の装着は、ボンディング材を塗布し光硬化させる前、塗布面からのエアブローにて窩壁に沿ってボンディング材のヌレが確認された上で行った。また、隔壁に使用するストリップスは、あらかじめ接触点の位置にラバーダムパンチにてパンチを行った。(Fig) このパンチされたストリップスを歯間に設置し、直視できないフリーエナメル直下のアンダーカット部においては、フロアブルレジンを裏装材として注入し先端が湾曲加工された充填器 (Mi-1, UEHARA) を用いて充填して、光硬化をさせた。その後、咬合面に対応できるコンポジットレジン HERCULITE XR (A2, Enamel, Kerr) にて隣接面から咬合面にかけて一塊として充填して、光硬化および形態修正を行った。



Fig. Perforate Strips with a rubber dam punch

【結果および考察】

隣接歯との接触関係が維持されていない歯に対し、ストリップスの接触点相当部位にパンチを施した隔壁を併用した MI テクニックは、CR 直接修復の従来法と比べ以下の知見が得られた。

- 1) 接触点の確実な回復：ストリップス部のパンチを通じて CR が隣接歯と直接接するため、歯間分離量に依存せず、適切な位置と強さの接触点を回復することが可能であった。
- 2) 患者負担の軽減：過度な歯間分離を回避できるため、処置中の不快感や術後の疼痛が大幅に軽減された。
- 3) 操作の簡略化：分離量の制御という不確定要素を排除できるため、臨床における予知性が向上した。

【結論】

隣接歯との接触関係が維持されていない歯に対し、ストリップスの接触点相当部位にパンチを施した隔壁を併用した MI テクニックは、CR 直接修復の従来法以上に機能性と審美性を兼ね備えた解剖学的形態の回復を得ることが出来た。また、本テクニックはメタルフリー修復への期待が高まる現代において、低侵襲かつ機能的な隣接面修復を達成するための有効な手段であると考えられた。

手術用顕微鏡 ORBEYE を応用した歯科保存治療および教育プログラムの構築に向けて

¹⁾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

²⁾デンタルみつはし

○箕輪文子¹⁾、三橋 純²⁾、三宅 凜¹⁾、赤塚瞭太¹⁾、Islam Asiful¹⁾、
清水真菜¹⁾、権 藝智¹⁾、長川直樹¹⁾、井出彩集¹⁾、友清 淳¹⁾

Development of a conservative dental treatment and education program based on ORBEYE

¹⁾Graduate school of Dental Medicine, Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Hokkaido University,

²⁾Dental Mitsuhashi

○Fumiko Minowa¹⁾, Jun Mitsuhashi²⁾, Rin Miyake¹⁾, Ryota Akatsuka¹⁾, Islam Asiful¹⁾,
Mana Shimizu¹⁾, Ieji Kon¹⁾, Naoki Nagakawa¹⁾, Ayai Ide¹⁾, Atsushi Tomokiyo¹⁾

【背景】

OLYMPUS 社より発売されている手術用顕微鏡 ORBEYE は、術野「外」に配置した 4K3D カメラにて拡大映像をモニターに映し出す「Exoscope (外視鏡)」に分類され、次世代の拡大鏡システムとして脳神経外科、脊髄外科、形成外科などで使用されている。さらに ORBEYE には波長 410nm の「紫色光」を照射する蛍光観察システムが搭載されており、その使用により腫瘍組織をリアルタイムに可視化し除去する「蛍光ガイド手術」が可能となる。また蛍光剤が含まれているコンポジットレジン (CR) 等の修復材料は紫色光にて緑色の蛍光を発生し、細菌の持つプロトポルフィリン IX (PPIX) は紫色光にて赤色の蛍光を発生することが知られている。そこで本研究では、ORBEYE の紫色光下にて修復材料および口腔内細菌感染部位の発光様式について検証を行い、ORBEYE の歯科保存治療への応用の可能性について検討することとした。さらに ORBEYE が、発光部位を特異的に除去することで高精度かつ低侵襲な治療を実現する「蛍光基盤型歯科保存治療」の教育プログラム構築へと応用できるかについても検討することとした。

【材料と方法】

CR (エステライトフロークイック、エステライトΣクイック、オムニクロマ、エステライトプロ、エステライトアステリア; トクヤマデンタル)、接着性レジンセメント (パナビア V5; クラレノリタケ、ジーセム ONE; ジーシー、ZEN ユニバーサルセメント、スーパーボンド; サンメディカル)、およびコアレジン (クリアファイル DC コア; クラレノリタケデンタル、ユニフィルコア、エバーエックスフロー; ジーシー、ポストフリーコア、i-TFC ポストレジン、i-TFC コアレジン; サンメディカル) をモールドに充填し照射にて硬化させたのち ORBEYE にて観察した。次にう蝕および歯石を有するヒト抜去歯、ならびに寒天培地および液体培地にて培養した *S.mutans* を ORBEYE にて観察した (北海道大学 大学院歯学研究院 臨床・疫学研究倫理審査委員会承認番号 2014 番 1 号)。またクロロフィル粉末 (東京化成工業)、エタノール、およびクロロフィル粉末をエタノールに溶解したクロロフィル溶液についても観察を行ったほか、クロロフィル溶液を添加したエステライトフロークイックおよびキャナルシーラーBG (日本歯科薬品) を用いて CR 充填ならびに根管充填を実施し、それらに対しても観察を行った。

【結果】

ORBEYE の紫色光下では、蛍光剤を含む CR、接着性セメント、およびコアレジンには緑色ではなく青みがかった白色として検出された。CR の多くは蛍光を発生したが、エステライトフロークイックおよびエステプロ LV スーパークリアは蛍光を発生しなかった。またシェード番号が大きくなると、蛍光性は低下する傾向にあった。接着性レジンセメントおよびコアレジンには蛍光性を持つものも認められたが、その割合は半分程度であった。抜去歯は抜歯から長期間経過していたが、歯石や細菌感染部位は赤色蛍光として検出された。しかしながら、赤色蛍光を発生しないう蝕部位も確認されたほか、寒天培地および液体培地にて培養した *S.mutans* の蛍光性も極めて低かった。紫色光下にてエタノールは蛍光性を示さなかったが、クロロフィル粉末およびクロロフィル溶液は強い赤色蛍光を発生し、クロロフィル溶液を添加したエステライトフロークイックおよびキャナルシーラーBG にて実施した CR 充填部位および根管充填部位も赤色蛍光を発生した。

【考察】

ORBEYE を歯科保存治療に応用することで蛍光剤を含有する修復材料や細菌感染の識別が可能となり、それらを高精度で除去できることが示唆された。また、クロロフィルは PPIX の代用となりうる可能性、ならびに模型に充填したクロロフィル含有の CR やシーラーを ORBEYE の紫色光下にて除去するトレーニングモデルは、蛍光基盤型歯科保存治療の教育プログラムの一つとなりうる可能性が示唆された。

上顎前歯部に漂白と接着修復治療を適用し審美的改善を行った1症例

大阪歯科大学 歯科保存学講座

○杉村留奈, 神田智子, 三木晃治, 奥村瑛恵子, 岩崎和恵, 吉田莉子,
保尾謙三, 谷本啓彰, 岩田有弘, 山本一世

A Case of Esthetics Rehabilitation with Tooth bleaching and Adhesive Restorations for maxillary anterior tooth

Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University

○SUGIMURA Runa, KANDA Tomoko, MIKI Koji, OKUMUARA Saeko, IWASAKI Kazue,
YOSHIDA Riko, YASUO Kenzo, TANIMOTO Hiroaki,
IWATA Naohiro, YAMAMOTO Kazuyo

【緒言】

上顎前歯部は人間の顔の第一印象を決定する因子の1つであり、形態不良や色調の悩みを抱えて歯科医院を受診される患者も多い。従来は歯冠を全周形成して、補綴物を作製することで問題点を解決する方法が一般的であったが、近年は接着修復治療の進歩により、低侵襲かつ簡便に治療を行うことができるようになった。また色調についても、漂白を併用することで複雑な色重ねを行うことなく、審美的な回復を実現することが容易になった。本症例では、上顎前歯部の形態不良に対して、オフィスホワイトニングとコンポジットレジン修復を用いて審美的回復を行い、良好な経過を得たので、その経過を報告する。

【症例】

患者: 53歳女性

主訴: 昔から前歯の形が気になっていた。真ん中の歯と歯の間の隙間も開いている。

現病歴: 20代の頃に歯科矯正治療を受けた。下顎前歯部の歯周病が進行し、抜歯後即時義歯を補綴科にて装着。上顎前歯部の形態不良を治したいという希望で依頼を受け、当科を受診。

既往歴: 特記事項なし。

現症: 上顎両側切歯については矮小歯で先天的な形態異常である。正中離開については、以前歯科矯正治療も行っているが咬合状態と舌癖もありフレアアウトをしてしまったと考えられる。

【治療経過】

上顎両側切歯については矮小歯で先天的な形態異常である。正中離開については、以前歯科矯正治療も行っているが咬合状態と舌癖もありフレアアウトをしたと推察された。健全歯質の保存を重視し、コンポジットレジンによる修復治療を提案し、患者の理解と同意を得た。また修復に際して、色調適合性を向上させる目的で事前にオフィスホワイトニング(Opalescence BOOST, Ultradent)を行ってもらうこととした。正中離開についてはバイオクリアブラックトライアングルキット(モリムラ)を、側切歯には Injectable Matrix(Ivener)を使用し、クリアフィル マジェスティ―ES フローU(クラレノリタケデンタル)にてコンポジットレジン修復を行った。修復後は色調の維持を目的にホームホワイトニングを行い、経過をみることとした。

【考察】

コンポジットレジン修復は、健全歯質を保存できるという大きな利点があるという一方で、技術的難易度が高く、治療時間も長くなる傾向がある。また補綴物と比較して、その場で色調を調整し、患者さんに満足してもらえる形態に仕上げることは難しい。本症例では、治療の簡便化と色調適合性の向上を目的にオフィスホワイトニングと様々な器材を組み合わせて使用した。この方法によってテクニックセンシティブな要素、形態修正や咬合調整の時間を大幅に削減することが可能となった。コンポジットレジンには審美性や機械的性質においてセラミックに劣るものの、患者は治療後の審美的・機能的結果に満足しており、今後咬耗が生じた場合にも補修修復により長期的な機能維持が可能である。

【結論】

本症例では上顎前歯の形態不良に対して、漂白を行い明度を上げた上でコンポジットレジン修復を行うことにより、煩雑な色調選択を行わずに簡便に治療を行うことができた。また修復を行う歯の形態に合わせて、最適な器材を使用することで術者による完成度の差を縮めることが可能となった。

過酢酸系除菌剤の抗菌性、生体安全性および根管洗浄効果

九州歯科大学 歯科保存再生治療学講座 口腔保存治療学分野¹
九州歯科大学 病態制御科学講座 感染分子生物学分野²
○高見梨華子^{1,2}, 鷲尾 絢子¹, 山崎 亮太², 有吉 渉², 北村 知昭¹

Antibacterial Activity, Safety, and Root Canal Irrigating Effectiveness of Peracetic Acid-Based Disinfectants

Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Department of Regenerative Science in
Conservative Dentistry¹

Division of Infections and Molecular Biology, Department of Advanced Pathophysiological Science²
Kyushu Dental University

○TAKAMI Rikako^{1,2}, WASHIO Ayako¹, YAMASAKI Ryota², ARIYOSHI Wataru², KITAMURA Chiaki¹

【目的】

根管洗浄剤として広く使用されている次亜塩素酸ナトリウム水溶液は、優れた殺菌効果を有する一方で、周囲組織に対する為害性が指摘されている。そこで、医療機器等の殺菌に用いられ、微生物に作用後の組織為害性が低いとされる過酢酸系除菌剤に着目し、抗菌性を維持しつつ生体安全性の高い根管洗浄剤となり得るか検討することを目的とした。

【材料と方法】

これまでの研究より、過酢酸濃度が $9.4 \times 10^{-4}\%$ のActril (MEDIVATORS) は難治性感染根管から検出される細菌である *Enterococcus faecalis* に対して抗菌・抗バイオフィーム・殺菌作用があり、かつ歯周組織関連細胞に対して為害性が低いことが示唆された。<実験1:バイオフィーム中の *E. faecalis* に対する Actril の殺菌効果検討> *E. faecalis* を96ウェルプレートに播種してバイオフィームを形成した後、0.85%生理食塩水、過酢酸濃度 $9.4 \times 10^{-4}\%$ のActril、原液の Antiformin (次亜塩素酸ナトリウム水溶液) を作用させ、Live/dead 染色により殺菌作用を評価した。<実験2: *E. faecalis* 感染根管に対する Actril の洗浄効果> ヒト抜去歯の根管内に *E. faecalis* を播種し、7日間培養してバイオフィーム形成を行った。過酢酸濃度 $9.4 \times 10^{-4}\%$ のActril、原液の Antiformin、0.85%生理食塩水を作用させ、*E. faecalis* 感染根管に対する根管洗浄剤の効果を電界放出形走査電子顕微鏡 (FE-SEM) 観察で評価した。また、根管内の *E. faecalis* を回収し、定量的ポリメラーゼ連鎖反応 (qPCR) にて根管に残存した細菌数を測定した。本研究は、公立大学法人九州歯科大学研究倫理委員会に承認を受けたものである (承認番号 24-13)。

【結果・考察】

<結果・考察1> 0.85%生理食塩水による洗浄は緑色蛍光を示し、バイオフィーム中の *E. faecalis* を殺菌できなかったのに対し、過酢酸濃度 $9.4 \times 10^{-4}\%$ のActrilによる洗浄は赤色蛍光も見られ、殺菌効果があることが示唆された。原液の Antiformin はどちらの蛍光も示さず、バイオフィームを分散したと考えられる。

<結果・考察2> FE-SEM 観察により、過酢酸濃度 $9.4 \times 10^{-4}\%$ のActrilで洗浄した根管壁は、原液の Antiformin、0.85%生理食塩水で洗浄を行ったものと比較し、象牙細管の開口が認められ、洗浄効果が高いことが示唆された。qPCRでは0.85%の生理食塩水においても非洗浄群と比較して有意に細菌数が減少した。したがって、還流の影響もあると考えられるが、過酢酸濃度 $9.4 \times 10^{-4}\%$ のActrilと原液の Antiformin では有意差がつかず、両洗浄剤は同等の効果を持つことが示唆された。実験2の結果より、過酢酸濃度 $9.4 \times 10^{-4}\%$ のActrilは原液の Antiformin と比較して同等またはそれ以上の洗浄効果を有すると考えられる。

【結論】

過酢酸系除菌剤は、次亜塩素酸ナトリウム水溶液と比較して安全で、バイオフィーム中の細菌に対しても殺菌効果を示し、根管内のバイオフィーム除去効果も有する根管洗浄剤となる可能性が示された。

次亜塩素酸ナトリウム溶液の影響を受けた象牙質接着の検討 ～歯頸部外部吸収に対する接着修復時のプロトコルの提案～

¹大阪大学大学院 歯学研究科 歯科保存学講座

²大阪大学大学院 歯学研究科 再生歯科補綴学講座

○岡本 基岐¹, 中谷 公貴¹, 大家 悠暉¹, 栗木 菜々子¹, 森山 輝一¹, 神田 ひかる¹, 小倉 萌々子¹,
高橋 雄介¹, 峯 篤史², 林 美加子¹

Performance of dentin bonding affected by sodium hypochlorite -Proposal of a protocol for adhesive restoration of external cervical resorption-

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

²Department of Regenerative Prosthodontics, The University of Osaka Graduate School of Dentistry

○Okamoto Motoki¹, Nakatani Koki¹, Ooya Yuki¹, Kuriki Nanako¹, Moriyama Kiichi¹, Kanda Hikaru¹,
Ogura Momoko¹, Takahashi Yusuke¹, Mine Atsushi², Hayashi Mikako¹

【目的】近年、コーンビーム CT の普及により、硬組織疾患である歯頸部外部吸収の三次元的な病態把握が可能となり、疾患に対する理解も進んだことから、2018年には欧州歯内療法学会よりポジションステイトメントが発表された。このように、歯頸部外部吸収の疫学や病因が徐々に明らかになりつつある一方で、欠損した硬組織の修復方法について、ケイ酸カルシウム系セメント、ガラスイオノマーセメントならびにコンポジットレジンによる修復が検討されているが、統一した見解が得られていない。われわれは歯頸部外部吸収の再発防止に重要と考えられる吸収窩内の肉芽組織を徹底的に除去するため、意図的再植にて拡大視野下で次亜塩素酸ナトリウム水溶液の有機質溶解作用を併用し、その後コンポジットレジン修復を行い良好な経過を得た症例を報告してきた (Okamoto M *et al.*, *Case Rep Dent.* 2023)。しかし、次亜塩素酸ナトリウム溶液で処理した象牙質面に対する接着システムの効果については議論の余地があり、接着システムの違いによる影響は十分に検討されていない。

そこで本研究では、意図的再植を想定した歯頸部外部吸収の修復処置において、次亜塩素酸ナトリウム溶液処理が象牙質接着におぼす影響と、2種の接着システム間の差異を検討することを目的とした。

【材料と方法】本研究は大阪大学歯学部附属病院倫理委員会の承認を得て実施した (承認番号: R7-E4)。健全抜去歯 66本を、①次亜塩素酸ナトリウム溶液処理なし (対照群)、②1分間の次亜塩素酸ナトリウム溶液処理後に生理食塩水で1分間洗浄、③5分間の次亜塩素酸ナトリウム溶液処理後に生理食塩水で1分間洗浄の3群に分けた。24時間の水中保管後、Ultradent法による Notched-edge shear bond strength test (ISO 29022)にて評価した。すなわち、抜去歯を樹脂包埋後、頰側歯頸部象牙質を露出させ、各接着システムのプロトコルに従い、歯科医師経験15年以上の歯科医師1名が室温環境下で接着処理を行った。評価した接着システムおよびコンポジットレジン以下の2種とした (n=11)。

- ・クリアフィル® メガボンド®2/クリアフィル マジェスティ ES フローユニバーサル A3 Low
- ・バルクベースライナーII (プースターブラシ不使用) /バルクベースハードII ミディアムフロー

統計解析は Two-way ANOVA および Tukey の多重比較検定を用い、有意水準は $\alpha=0.05$ とした。

【結果】①対照群において、クリアフィルメガボンド2およびボンドマーライトレスIIは、象牙質歯面に対して同等の接着力を示した ($p>0.05$)。②1分間および③5分間の次亜塩素酸ナトリウム溶液処理後、ボンドマーライトレスIIは対照群との間に有意差はなかった。一方、クリアフィル®メガボンド2は③5分間の次亜塩素酸ナトリウム溶液処理後生理食塩水で洗浄した条件において、対照群に比較して優位に高い値を示した ($p<0.001$)。なお、これら2種の接着システムでは、いずれの条件においても水中保管中の脱離は認められなかった。

【考察および結論】本研究は、次亜塩素酸ナトリウム溶液処理が象牙質接着に及ぼす影響を、異なる接着システム間で比較検討したものである。その結果、光重合型接着システムは、次亜塩素酸ナトリウム溶液の影響を受けにくいことが明らかになった。これまでに化学重合型接着システムは次亜塩素酸ナトリウム溶液の影響を受けやすいことが指摘されている。また、接着システムの中には歯面温度などの環境要因の影響を受け、接着力が低下するシステムも報告されている (Yumitate M, Mine A *et al.*, *Dent Mater J.* 2022)。ボンディングレジンの違いによって次亜塩素酸ナトリウム溶液の影響が異なることを念頭におき、意図的再植などの症例や使用環境に応じた適切な接着システム選択が重要となることが示唆された。

Er:YAG レーザー活性化洗浄 (LAI) における洗浄条件が根管貼薬剤除去能に及ぼす影響

北海道大学大学院歯学研究院 口腔総合治療学教室

○月田佳李, 西田絵利香, 宮治裕史

Effect of Irrigation Conditions in Er:YAG Laser-Activated Irrigation on the Removal Efficiency of Intracanal Medicament

General Dentistry, Faculty of Dental Medicine, Hokkaido University

○Kari TSUKITA, Erika NISHIDA, Hirofumi MIYAJI

【背景および目的】

水酸化カルシウム [Ca(OH)₂] は優れた抗菌性を有し、根管貼薬剤として広く使用されている。根管内に残存した Ca(OH)₂ は、根管充填の封鎖性の低下や根尖漏洩の原因となる可能性があり、根管充填前の確実な除去が求められる。しかし、湾曲根管や複雑な根管形態では、従来の洗浄法による Ca(OH)₂ の完全除去は困難であることが知られている。近年、Er:YAG レーザーを用いたレーザー活性化洗浄 (Laser-activated irrigation: LAI) は、複雑な根管形態においても高い洗浄効果を示すことが報告されているが、レーザーのチップ先端径、チップ設置位置および洗浄時間などの条件が除去効率に及ぼす影響は十分に検討されていない。

本研究の目的は、湾曲根管模型および複根管模型を用い、LAI における洗浄条件の違いが根管貼薬剤除去能に及ぼす影響を明らかにすることである。また、LAI の除去能の参考対照として、シリンジ洗浄 (Syringe irrigation: SI) および超音波活性化洗浄 (Ultrasonic-activated irrigation: UAI) と比較した。

【材料と方法】

歯内療法用ブロック (END1001-30 および S1-L6, ニッシン) を模擬根管とし、根管貼薬剤には水酸化カルシウム製剤 (カルシベックス II, 日本歯科薬品) を用いた。洗浄には蒸留水を使用した。LAI では Er:YAG レーザー (LightWalker, FOTONA d.o.o.) を用い、SWEEPS モードにて、湾曲根管模型は 20mJ, 20Hz, 複根管模型は 40mJ, 20Hz で洗浄を行った。使用したチップは、先端直径 (0.4~0.8mm)、先端形状 (円錐/円柱テーパー/円柱) が異なり、この組み合わせにより、湾曲根管模型では 6 種類、複根管模型では 3 種類のチップを用いた。また、洗浄時間 (30 秒/30 秒×2) およびチップ設置位置 (模型上面から +1mm/+2.6 mm) の影響も検討し、SI および UAI も比較対照とした。洗浄前後の模擬根管を実体顕微鏡 (Zeiss stemi305, ZEISS) にて撮影し、ImageJ を用いて貼薬剤残存面積を測定し、除去率を算出した (各条件 N=4)。

【結果】

湾曲根管模型において、SI および UAI の除去率は 30 秒洗浄で約 3%、30 秒×2 回洗浄でも約 13% に止まったのに対し、LAI ではチップ間で差はあるものの、両者より有意に高い除去率 (27~93%) を示した。LAI におけるチップ比較では、同一形状内で比較した場合には、先端径が小さいチップほど高い除去率を示す傾向を認めた。

複根管模型においては、SI および UAI の除去率は 30 秒洗浄で約 8~16%、30 秒×2 回洗浄でも約 11~17% に止まったのに対し、LAI は他の洗浄法と比較して高い除去率 (33~98%) を示した。チップ間の比較では有意な差は認めなかったが、洗浄時間の延長およびチップ先端をより根尖側に設定した条件で除去率が高くなる傾向が認められた。

【結論】

LAI は湾曲根管および複根管模型において高い根管貼薬剤除去率を示し、チップ先端径の小型化および根尖側への設置、十分な洗浄時間の確保が重要であることが示唆された。

tip (tip diameter) shape	tip①(0.6mm)	tip②(0.8mm)	tip③(0.4mm)	tip④(0.6mm)	tip⑤(0.4mm)	tip⑥(0.6mm)
	conical	conical	tapered cylinder	tapered cylinder	cylindrical	cylindrical
Curved canal (30s)	86.56%	44.42%	82.75%	76.97%	63.26%	27.86%
Curved canal (30s × 2)	92.01%	91.43%	92.45%	93.33%	91.61%	90.28%
Multiple-root canal (30s)	33.58%		59.10%		51.83%	
Coronal + 1.0 mm						
Multiple-root canal (30s)	89.74%		86.79%		98.20%	
Coronal + 2.6 mm						
Multiple-root canal (30s × 2)	45.22%		85.86%		76.09%	
Coronal + 1.0 mm						
Multiple-root canal (30s × 2)	89.48%		87.70%		98.53%	
Coronal + 2.6 mm						

▲ Mean removal rates of Calceipex II in curved and multiple-root canal models (N=4)

Er:YAG レーザーにおける根管洗浄の新規パラメーターの検討

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東京科学大学医歯学総合研究科歯髄生物学分野

○辺見浩一¹、Moe Sandar Kyaw¹、八幡祥生²、齋藤正寛¹

Fine-Tuning Er:YAG Laser Parameters to Improve Root Canal Irrigation

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

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

○Kouichi Henmi¹, Moe Sandar Kyaw¹, Yoshio Yahata², Masayoshi Saitou¹

【目的】

根尖性歯周炎は、根管内に形成されたバイオフィルムを感染源とする顎骨の炎症性疾患である。本教室ではこれまでに、Er:YAG レーザーのファイバーチップを髓室内に静置して照射し、根管内で生じるキャビテーションによってバイオフィルム除去を可能とする **Coronally-placed Laser Activated Irrigation** (以下 C-LAI) を開発してきた。本研究では、C-LAI におけるバイオフィルム除去効果を最適化するため、複数のレーザー出力パラメータ(繰り返し周波数, パルス幅, 出力エネルギー)による根管洗浄効果を比較することを目的とした。

【材料および方法】

10 週齢雄性 Wistar ラットの下顎第一臼歯に根管内バイオフィルムモデルを作製するモデルを用いた。東北大学倫理委員会(承認番号: 2023SHIDO-002)の承認を得て、すべての動物実験手順を実施した。髓室開拓後、近心根および遠心根の穿通を確認し、Ni-Ti ファイルにて先端径 0.25 mm、テーパー 0.04 に根管形成を行った。口腔内細菌への曝露のため 2 週間開放した後、仮封を行い、4 週間嫌気的環境下でバイオフィルムを成熟させた。屠殺後直ちに、下顎骨を取り出し、仮封除去後に根管洗浄を実施した。根管洗浄は 6 群を設定した。無洗浄群をコントロール (Ctrl), シリンジによる洗浄群を Syr とした。レーザー洗浄には 4 群を設定した。既存の Er:YAG レーザー (Erwin AdvErl EVO、モリタ製作所) を用いた AdvL 群は、繰り返し周波数 20 Hz, パルスエネルギー 30 mJ, パルス幅 300 μ s とした。実験用半導体励起 Er:YAG レーザーを用いた 3 群は、繰り返し周波数をそれぞれ 20 Hz (20H)、50 Hz (50H)、100 Hz (100H) とし、パルス幅は全群 250 μ s とした。実験用レーザー群のパルスエネルギーは、平均出力が AdvL 群と同等となるように印加電流を調整して設定した。根管洗浄は、近心根管、遠心根管とも 2.5%次亜塩素酸ナトリウムを用いて 30 秒間洗浄後、髓室内にレーザーチップを設置し C-LAI に準拠し、蒸留水を供給しながら 30 秒間照射した。これを 1 サイクルとし、5 サイクル、計 5 分間の洗浄を行った。評価項目として、qPCR による根管内残存細菌 DNA 量の定量、および走査型電子顕微鏡 (SEM) による根管中央部の観察を行った。SEM 像は Hülsmann スコアを用いてデブリおよびスメア層除去を評価した。統計解析は、一元配置分散分析および Turkey 法を用い、有意水準は 5%とした。

【結果】

残存細菌 DNA 量において、全てのレーザー洗浄群は、Ctrl よりも有意に低い値を示した。レーザー洗浄群の中では、20H が低い値を示した。またレーザー洗浄群ではいずれも高いデブリ除去を認めたが、スミヤ層除去に関しては、50H および 100H の高い繰り返し周波数群において、低い除去効果を示した。

【考察・結論】

レーザー洗浄は、根管内細菌の減少に有効なことが明らかになった。平均出力 0.62 W 条件下において、繰り返し周波数の違いにより異なる洗浄結果を得た。特に高周波数領域においては、細菌除去効果を認めたものの、スミヤ層除去効果は減少傾向を示した。これは、高周波数化に伴いパルスあたりのエネルギーが減少し、C-LAI におけるキャビテーション発生に必要な圧力変動が十分に生じなかったためと推察される。今後は、各条件におけるキャビテーション発生の詳細およびパルス幅が洗浄効果に与える影響を明らかにし、レーザーパラメータと根管内の流体動態との関係を把握することで、根管内バイオフィルム除去に最適化した治療技術の開発を目指す。

新規カルシウムシリケート系シーラーの硬組織形成能に関する研究 (II)

神奈川県立歯科大学歯科保存学講座 歯内療法学分野

○藤巻龍治, 鈴木二郎, 室町幸一郎

A study on the mineralization ability of a newly developed calcium-silicate sealer (II)

Department of Pulp Biology and Endodontics of Kanagawa Dental University

○FUJIMAKI Ryuji, SUZUKI Jiro, MUROMACHI Koichiro

【研究目的】

カルシウムシリケート系シーラーの特徴は、「充填後、放出される Ca^{2+} が体液中の PO_4^{3-} と反応して硬化物表面にアパタイト結晶を析出することにより根管壁との隙間を封鎖すること」、さらに「根尖歯周組織と接するシーラー表面も生体親和性のアパタイト被膜で覆われるので、骨芽細胞の増殖を阻害しないこと」である。しかしながら水硬性 MTA 根管充填シーラーは「再治療時に硬化物が完全除去できないという問題点」だけではなく、ペースト（親水性）が水や血液に溶けるため、「穿孔部の血液（タンパク質）汚染が原因となって根管壁でのアパタイト析出阻害の懸念、およびシーラーが硬化阻害を受けてボソボソになる問題点」が報告されている。

先に我々は、水硬性 MTA シーラーの上記問題点を解消すべく開発された「練和ペーストが疎水性の MTA マルチシーラー〔糊クラック〕のアパタイト析出能について報告した。

本研究は、MTA マルチシーラーに Bioactive Glass を加えることで根管充填シーラーとして操作時間に余裕がある SLOW 硬化タイプの疎水性シーラー（以下、MTA+BG シーラー）を新開発し、アパタイト形成能について解析を行った。

【材料および方法】

新規 MTA+BG シーラーの組成は、粉材成分〔MTA クリッカー、Bioactive Glass (47S)、ジルコニア、その他〕および液材成分（脂肪酸、ロジン、その他）から成る。重量比を粉/液=2.5/1.0 で練和したペーストをテフロンモールド（内径 10mm x 厚さ 2mm）に充填し、37°C 相対湿度 95%で硬化させて円盤状の試験片を作製した。

アパタイト形成能試験： 試験片をリン酸緩衝液 PBS (-) 30mL 中に浸漬して 37°C にて最大 2 週間保管し、浸漬前、浸漬 3 日後、7 日後、14 日後の試験片表面の析出物を電子顕微鏡 (JCM-6000Plus 日本電子) により観察を行い、析出成分の同定は X 線回折 (XRD: SmartLab9kw リガク) 法を用いて分析した。

【結果および考察】

新規 MTA+BG シーラーは、PBS 浸漬 3 日後から析出物が経時的に堆積し始め、5~14 日後には浸漬前に観られた MTA 粒子や BG 粒子の形状が確認できなくなる程、大量で緻密な析出物により表面が覆われた。X 線回折法 (XRD) にて析出物の結晶構造解析した結果、検出ピークはアパタイト前駆物質であるオクタリン酸カルシウム (OCP) であると同定した。OCP は生体内でアパタイトに転化することや骨芽細胞を活性化して骨再生を促進することが報告されている。

【結論】

新規 MTA+BG シーラーは、硬化物表面にアパタイト前駆物質であるオクタリン酸カルシウム (OCP) を形成することが確認された。これにより、本シーラーは根管壁封鎖性や根尖部での生体適合性に優れた根管充填材料になる可能性が示唆された。

ショートファイバーの添加がレジン系根管充填用シーラーの機械的性質に与える影響

日本歯科大学附属病院総合診療科 1 (歯内療法)¹⁾, 日本歯科大学生命歯学部歯科理工学講座²⁾,
日本歯科大学生命歯学部歯科保存学講座³⁾

○古田賢太郎¹⁾, 石田祥己²⁾, 三枝慶祐^{1,3)}, 興地隆史³⁾, 新谷明一²⁾, 北村和夫¹⁾

Effect of Short Fiber Reinforcement on the Mechanical Properties of Resin-Based Root Canal Sealer

Division of General Dentistry 1 (Endodontics), The Nippon Dental University Hospital¹⁾, Department
of Dental Materials Science The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Tokyo²⁾,
Department of Endodontics, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Tokyo³⁾

○Kentaro Furuta¹⁾, Yoshiki Ishida²⁾, Keisuke Saigusa^{1, 3)},
Takashi Okiji³⁾, Akikazu Shinya²⁾, Kazuo Kitamura¹⁾

【緒言】歯内療法領域の課題の一つに歯根破折がある。そのリスク低減に関する研究の多くはポスト材料が対象だが、根管充填用シーラー (以下: シーラー) の機械的性質の向上も、この方面の新たな戦略の開発に繋がる可能性がある。近年では短く細断されたガラス繊維であるショートファイバー (以下: SF) を配合し、象牙質類似の靱性や弾性が付与された歯冠修復用コンポジットレジンが開発されている。また従来のシーラーの主たる役割は、ガッタパーチャと象牙質壁との封鎖とされてきたが、近年では象牙質接着性シーラーとしてレジン系シーラーの開発や、硬化時の微膨張性質により、厚いシーラー層を許容する考えが提唱されており、シーラーを根管充填の主体とすることの有用性も示唆されている¹⁾。

本研究は歯根破折のリスク低減を目指し、象牙質と同等の機械的性質を有する材料を用いた根管充填による歯根補強の検証を目的とし、その第一段階としてSFの添加がレジン系シーラーの機械的性質に与える影響について検討した。

【材料と方法】実験には被験シーラーとして2ペーストタイプのメタクリレートレジン系 (メタシール Soft ペースト, サンメディカル, 滋賀, 以下: MR), エポキシレジン系 (AH プラスジェット, Dentsply Sirona, バレーグ, 以下: ER) の2種類を使用した添加SFとして平均径 6.5 μm 平均長 100 μm のSF (カットファイバー-SS 05DE-413, 東洋紡, 東京) を使用した。SFの添加は、自動練和機 (ARV-310, シンキー, 東京) を用いて毎分 2000 回転, 2 分間の設定でシーラー練和前に片方のペーストのみに行った。

実験群の設定は SF 無添加のコントロール群 (0%), SF10wt%添加の添加群 (10%) とし、2 種のシーラーの組合せから 4 群 (n=10) の実験群を設定した。

被験シーラーを練和後、エンドノズル (サンメディカル) を用いて 2×2×25mm のシリコンモールドに注入し、ガラス板で挟み 37°C の恒温器内に 48 時間静置し硬化させた。硬化後にモールドから取り外し、37°C の蒸留水で 24 時間水中保管した。3 点曲げ試験は、ISO4049 に準じて万能試験機 (AGS-X 10kN, 島津, 京都) を用いてヘッドスピード 1.0mm/min で行った。得られた応力ひずみ曲線から曲げ強さと曲げ弾性率を算出した。

統計解析は統計処理ソフト (SPSS Statistics version 27, IBM, アーモンク) を用いて Tukey 検定にて有意水準 5% で多重比較を行った。

【結果・考察】曲げ強さ (MPa) の平均値は MR0% で 5.53, MR10% で 13.67, ER0% で 17.60, ER10% で 31.88 を示し、全群間に有意差を認めた (p<0.05)。異種シーラーの群間に有意差を認めたため、シーラー基材の組成が影響していると考えられる。またどちらのシーラーも SF の添加で曲げ強さが有意に増加したことから、どちらの基材に対しても補強効果が得られたと考えられる。

曲げ弾性率 (GPa) の平均値は MR0% で 0.02, MR10% で 0.08, ER0% で 5.52, ER10% で 6.97 を示し、同種シーラー間に有意差を認めなかった (p>0.05)。曲げ弾性率は微小ひずみ領域において評価されたこと及び、シーラー自体の弾性率が小さいことから、シーラー基材組成の影響が大きく、SF 添加による影響は小さかったと考えられる。

【結論】以上より、SF の添加がレジン系シーラーの機械的性質を向上させることが明らかとなった。今後は添加割合や添加方法の検討などを行う予定である。

本研究は JSPS 科研費 JP25K24082 の助成を受けたものである。

1) FURUTA K et al. Effect of the Wet Environment Around the Root on Dimensional Changes in Resin-based Root Canal Sealer During Setting in Human Extracted Teeth ODEP 2024; 4(1): 36-45.

バイオセラミックス系シーラーによる骨芽細胞への生体親和性および石灰化への影響

日本大学歯学部歯科保存学第Ⅱ講座¹, 日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医療研究部門²
○岡野真之¹, 安川拓也^{1,2}, 林 誠^{1,2}, 新井智美¹, 武市 収^{1,2}

Biocompatibility and calcification on osteoblasts by bioceramic sealers

Department of Endodontics¹, Division of Advanced Dental treatment, Dental Research Center²,
Nihon University School of Dentistry

○Masayuki Okano¹, Takuya Yasukawa^{1,2}, Makoto Hayashi^{1,2}, Tomomi Arai¹, Osamu Takeichi^{1,2}

【研究目的】

歯内療法領域においてバイオセラミックスを含む歯科材料は広く臨床応用されており、なかでもバイオセラミックス系シーラーの普及は著しく、様々な製品が開発・販売されている。演者らは第 161・162・163 回日本歯科保存学会学術大会にて、異なる混和比で作製した試料による骨芽細胞への影響について発表した。そこで本研究では、被験試料が骨芽細胞に対する生体親和性および石灰化に与える影響を明らかにすることを目的とし、実施することとした。

【材料および方法】

被験試料は MTA マルチシーラー (クラーク) とニシカキャナルシーラー BG multi (日本歯科薬品) の 2 種類で、対照試料として ProRoot MTA (Dentsply Sirona) を用いた。また、骨芽細胞としてマウス頭蓋冠由来株化骨芽細胞である MC3T3-E1 細胞を用いた。

試料の調整

MTA マルチシーラーは粉液比 3.5 および 6.0 の条件にて混和、ニシカキャナルシーラー BG multi はペースト/パウダー重量比 10:0 および 10:6 の条件にて混和した。また、ProRoot MTA は製造者の指示通りに混和した。これらの試料を直径 9mm、厚さ 3mm の型枠に填入し、37°C、相対湿度 100%、5%CO₂ の条件下で 24 時間静置し硬化させ、 α -minimum essential medium (α -MEM) 中に 3 日間浸漬した。その後、MC3T3-E1 細胞を播種した細胞培養用プレート上の cell culture insert に被験試料を静置し、試料を設置しないものを陰性コントロールとした。

実験 1. 被験試料から遊離する Ca²⁺濃度の測定

本実験条件における被験材料より遊離する Ca²⁺濃度を Calcium E-test Wako (和光純薬) を用いて測定した。また、0.3mM EGTA を含む α -MEM を用いて同様に測定した。

実験 2. MC3T3-E1 細胞に対する生体親和性

各被験試料の生体親和性について、Cell counting kit-8 (同仁化学) を用いて細胞数を測定した。また、0.3mM EGTA を含む α -MEM を用いて培養し、各被験試料による細胞数を同様に測定した。

実験 3. アルカリフォスファターゼ(ALP)活性の測定

本実験条件における ALP 活性を QuantiChrom Alkaline Phosphatase Assay Kit (Funakoshi) を用いて測定した。

実験 4. アリザリンレッド染色

各被験試料の石灰化能について、10 mM β -glycerophosphate および 50 μ g/mL ascorbic acid を添加した石灰化培地を用いて培養した細胞を 1%アリザリンレッド水溶液 (Mute Pure Chemicals) を用いて染色した。

【結果】

実験 1 では MTA マルチシーラーは 1 日目から 3 日目にかけて経時的に増加し、約 5mg/dl まで上昇した。これは ProRoot MTA と同程度の Ca²⁺ の放出量で、3 日目から 7 日目において MTA マルチシーラー群と有意差は認められなかった。ニシカキャナルシーラー BG multi では 1 日目から 3 日目にかけて約 3mg/dl の Ca²⁺ を放出した。実験 1, 2 および 3 では 6 群間で比較したところ、MTA マルチシーラー群と陰性コントロール間には有意差は認められず、ニシカキャナルシーラー BG multi 群間にも有意差は認められなかった。一方で、MTA マルチシーラー群・陰性コントロールとニシカキャナルシーラー BG multi 群の間には有意差が認められ、ProRoot MTA は他のすべての群と比較して有意に増加していた。実験 4 では MTA マルチシーラー群と ProRoot MTA で染色像が確認された。

【考察および結論】

以上の結果から、放出されるカルシウムイオンが多いバイオセラミックス系シーラーが骨芽細胞の細胞増殖および石灰化をより促進する可能性が示唆された。

ケイ酸カルシウム系逆根管充填材における物理化学的・生物学的特性に関する検討

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
○松裏貴史, 阿嘉明日香, 吉村篤利

Evaluation of the physicochemical and biological properties of calcium-silicate-based root-end filling materials

Department of Periodontology and Endodontology, Nagasaki University Graduate School
of Biomedical Sciences, Nagasaki, Japan
○Takashi Matsuura, Asuka Aka, Atsutoshi Yoshimura

【背景】

プロルート MTA は生体親和性に優れ、硬組織誘導能を有するため、歯根端切除術における逆根管充填材として使用されている。しかし、操作性の悪さやウォッシュアウトが生じるといった欠点があるため、近年これらの欠点を克服するために様々な製品が開発されている。そのうちの1つに、パテタイプのケイ酸カルシウム系材料である Bio-C repair がある。しかし、Bio-C repair は開発されてから日が浅く、その有効性に関する研究は十分とは言えない。そこで今回我々は、①Bio-C repair (BR)、②プロルート MTA (P)、③スーパーボンド (SB) の3種類の材料の、ヒト歯根膜由来細胞 (hPDLs) に対する化学的・生物学的特性を比較することを目的として実験を行った。

【方法】

本研究は、長崎大学病院臨床研究倫理委員会の承認を得た後に実施した(許可番号: 23041710)。BR, P, SB をメーカーの取扱説明書の指示に従って準備して型に填入し、37°C、湿度 100%、5% CO₂ インキュベーター内に 48 時間静置し硬化させてディスクを作製した (n = 10)。また、長崎大学病院で抜歯された抜去歯の歯根中央部 1/3 からメスを用いて hPDLs を採取し、10% FBS 含有 DMEM 培地中で 37°C、5% CO₂ 条件下で培養後、3~5 代継代したものを実験で使用した。作製したディスクを 48 ウェルプレートの底面に静置し、その上に hPDLs を、100,000 cells/well の濃度で播種し、10% FBS 含有 DMEM 培地中で培養し、7 日目および 28 日目に細胞代謝活性試験を行った。ディスクを静置せず hPDLs のみで培養したものを対照群とした (NC)。また、材料の物理化学的特性を検討するため、作製した各ディスクを 48 ウェルプレート底部に静置し、イオン交換水 500 μL を添加して 28 日後まで 2~3 日毎に交換し、交換の際に回収した溶出液に対し、3 日目から 28 日目まで計 12 回、pH および Ca イオン濃度の測定を行った。ディスクを静置せずイオン交換水のみのもを対照群とした (NC)。また、精密天秤を用い、作製直後のディスクの質量、28 日間浸漬後の質量、およびその後の 48 時間乾燥させた後の質量を測定した。得られた値から質量変化率および吸水率を算出した。4 群間の比較には Welch の t 検定を用い、ボンフェローニ法による補正を行って有意水準を $\alpha = 0.008$ (0.05/6) に設定した。培養 7 日目と 28 日目の吸光度の差の検定には対応のある t 検定を用いた ($\alpha = 0.05$)

【結果】

培養 7 日目の吸光度において、BR 群 (0.78 ± 0.46) は P 群 (1.35 ± 0.37) および NC 群 (1.41 ± 0.34) に対して有意に低い値を示した。しかし、28 日目には BR 群の活性は 2.11 ± 1.17 まで有意に上昇し、SB 群 (2.44 ± 0.39) や NC 群 (2.69 ± 0.33) との間に有意差は認めなかった。一方で、P 群は 28 日目においても活性の向上が見られず (1.20 ± 0.41)、SB および NC 群に対して有意に低い値にとどまった。BR 群は実験期間を通じて pH 約 11.0 の安定した高アルカリ性を維持した。一方 P 群は初期の pH 9.8 から 28 日目には pH 9.1 まで有意に低下した。Ca イオン放出量において、BR 群は 3 日目に 152.7 ppm という極めて高い値を示し、その後も他の材料より高い放出能を維持した。P 群の Ca イオン放出量は実験期間を通じて BR 群より有意に低値であった。28 日後の質量変化において、BR 群は 15.7% の顕著な質量増加を示した。SB 群もわずかな増加を示したが、P 群は唯一、負の値を示し、材料成分の溶出が示唆された。吸水率においても BR 群は 15.4% と極めて高い値を示し、P 群や SB 群と比較し有意に高い吸水特性が確認された。

【考察】

本研究の結果、プレミックスタイプの BR は、初期においては強アルカリ性と急激なイオン放出により細胞活性を一時的に抑制するものの、長期的には P を上回る優れた細胞親和性と、持続的かつ非常に高いバイオアクティビティを示すことが明らかとなった。また、高い吸水能に伴う質量増加は、臨床において根管壁への緊密な適合をもたらす可能性を示唆している。以上のことから、Bio-C Repair は従来の MTA の欠点を補い、高い臨床効率と良好な予後を両立し得る有望な逆根管充填材料であると考えられる。

リン酸化プルラン含有 MTA の逆根管充填における封鎖性と 歯根端切除術後の治癒に対する有効性

1 北海道大学 大学院歯学研究院 口腔健康科学分野 歯周病学教室

2 生体材料工学教室 3 難治性歯内・歯周疾患治療学分野

○堂 寛隆¹, 辻村 大河¹, 佐藤 賢人¹, 川上 紗也雅¹, 高橋 直紀¹, 吉田 靖弘², 菅谷 勉³

Sealing ability and healing efficacy of MTA containing phosphorylated pullulan in retrograde filling after apicoectomy

1 Periodontology, 2 Biomaterial and Bio Engineering, 3 Advanced Treatment for Refractory Endodontic and
Periodontal Diseases, Hokkaido University Faculty of Dental Medicine

○Hiroataka Do¹, Taiga Tsujimura¹, Takahito Sato¹, Sayaka Kawakami¹, Naoki Takahashi¹,
Yasuhiro Yoshida², Tsutomu Sugaya³

【目的】

MTA は逆根管充填材として高い評価を得ているが、操作性等には改良の余地がある。一方、リン酸化プルラン含有 MTA シーラー (PPL-MTA) は象牙質への接着性があり、紛液比を上げるとパテ状になるため、逆根管充填材としても有効性が期待できる。本研究では、PPL-MTA の封鎖性および歯根端切除術後の治癒効果を検討した。

【材料と方法】

実験 1. ヒト抜去歯の根尖部 3 mm を切除し、深さ 1 または 3 mm の逆根管充填窩洞を形成した。MTA 群では NEX MTA セメント (ジーシー)、PPL-MTA 群では PPL を混和した NEX MTA セメント (ジーシー) を逆根管充填し、対照群は逆根管充填しなかった。硬化後に根管をメチレンブルーで満たし、1~21 日後の根尖からの色素漏洩量を測定した (北海道大学 倫理承認 2020 第 3 号)。

実験 2. ビーグル犬の前臼歯に根尖性歯周炎を作製後、根管が汚染したまま歯根端切除術および逆根管充填を行った。4, 16 週にデンタルエックス線画像および病理組織学的に治癒状態を評価した (北海道大学 動物実験承認 22-0148)。

【結果と考察】

実験 1. MTA 群は窩洞の深さが 3 mm では良好な封鎖性を示したが、1 mm では漏洩量が有意に増加した ($p < 0.05$)。一方、PPL-MTA は 1 mm と 3 mm はいずれもほとんど漏洩がなく、両群間に有意差はなかった ($p > 0.05$)。

実験 2. 術後 16 週のエックス線画像計測と組織計測では、MTA 群および PPL-MTA 群のいずれも対照群に比較して有意な骨欠損の改善を示した ($p < 0.05$) が、両群間に有意差はなかった ($p > 0.05$)。両群とも骨欠損内には新生骨が広範にみられ、根尖部にセメント質様硬組織が形成された。逆根管充填材の長さや骨欠損面積の関係を解析した結果、MTA 群では逆根管充填材が 2 mm 以下になると骨欠損が大きくなる傾向がみられたが、PPL-MTA 群では逆根管充填材の長さによる影響は小さかった。PPL-MTA は逆根管充填が深く形成できない場合や逆根管充填が難しい症例などでは、良好な治癒が得られる可能性が示唆された。

【結論】

PPL-MTA は逆根管充填窩洞が浅くても封鎖性が確保でき、根尖部骨欠損の治癒促進やセメント質様硬組織形成は MTA と同様の効果がみられた。

歯根端切除後の治癒に bone morphogenetic protein 9 が及ぼす影響

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 歯周病学分野¹

鹿児島大学病院成人系歯科センター 歯周病科²

○永松巧¹, 川上克子², 中村利明², 園田怜美¹, 伊藤清香¹, 白方良典¹

Effect of Bone Morphogenetic Protein 9 on Periapical Wound Healing After Apicoectomy

Department of Periodontology, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences¹

Advanced Dentistry Center, Kagoshima University Hospital²

○Takumi Nagamatsu¹, Yoshiko Kawakami², Toshiaki Nakamura²,
Reimi Sonoda¹, Sayaka Ito¹, Yoshinori Shirakata¹

[研究目的]

近年、歯根端切除術が適応となる根尖性歯周炎に対して根尖病巣の除去・逆窩洞充填後、生体親和性が高く優れた封鎖性・抗菌性を有する mineral trioxide aggregate (MTA) で切断面の封鎖をすることで良好な治癒が得られることが広く知られている。しかし根尖部骨欠損が広範に及んだ長期感染症例においては、逆根管充填処置のみでは歯槽骨の再生が不十分で癒痕性の治癒が生じる可能性が報告されている (Yang Deng *et al.* 2016)。一方、我々はラット頭蓋骨欠損において bone morphogenetic protein 9 (BMP9) が顕著な骨形成促進効果を有することを報告 (Nakamura *et al.* 2017, Imafuji T *et al.* 2021) してきた。そこで今回、実験動物の歯根端切除術後の根尖切断面/骨欠損の治癒に BMP9 が与える影響を評価した。

[材料および方法]

実験動物としてビーグル雌成犬 4 頭を使用した。両側下顎前臼歯を抜髄後、ブランクを根管内に填入し根尖性歯周炎を惹起した。処置後 4 週に根管を洗浄し、ガッタパーチャポイントで根管充填後に歯根端切除と根尖部骨窩洞作製を行った。これらの部位に 1) 血餅のみ (Control 群), 2) MTA による根尖封鎖 (MTA 群), および 3) BMP9 (0.2 μg) を含浸させた MTA による根尖封鎖 (MTA/BMP9 群) を無作為に施した。術後より経時的にエックス線写真を撮影し骨欠損部の不透過性の程度について放射線学的評価を行った。16 週後に動物の安楽死を行い、被検部位の脱灰薄切標本作製、ヘマトキシリン・エオジン染色後に根尖部の炎症性細胞浸潤スコア (0-3), およびセメント質様組織による根尖切断面の被覆率 (LC/LR), 根尖部骨欠損領域 (4×5 mm) に占める新生骨面積 (NBA) および切断面から新生骨間距離 (LPS) について組織学的評価・形態計測を行った。

[結果と考察]

根尖部骨欠損の放射線学的評価において、全群で経時的に不透過性の充進を認めた。観察期間終了時、Control 群では透過像が残存していたが、MTA 群では被検歯の 25% で MTA/BMP9 群では 50% で透過像は消失し骨様の不透過像で占められていた。炎症性細胞浸潤スコアは Control 群で 2.5±1.0 で最も高く、MTA 群で 1.25±0.5, MTA/BMP9 群で 0.75±0.5 であった。組織学的所見において全部位でアンキロシスは認められなかった。LC/LR については MTA/BMP9 群で最も高く 57.0±39.3% で、MTA 群で 27.1±18.3%, そして Control 群では 0% であった。NBA は Control 群で 5.14±1.91mm², MTA 群で 7.94±2.49 mm², MTA/BMP9 群で 7.46±1.89 mm² であった。LPS は MTA/BMP9 群で 0.47±0.17mm と最も短く、Control 群で 1.83±0.46mm, MTA 群で 0.77±0.32mm であった。これらのパラメータの全てにおいて 3 群間で統計学的有意差は認められなかったが、MTA/BMP9 群は最も良好な治癒形態であった。これらの所見は MTA に加え BMP9 を用いることで切断面のセメント質形成、および根尖部欠損における骨再生が誘導されたことを示唆するものかもしれない。しかし、本試験はサンプル数が少なく、感染期間も比較的短期であるため BMP9 の徐放性や至適濃度の検討を含め、今後さらなる検証が必要と考えられる。鹿児島大学動物実験承認番号 (D23011)

ラット再生歯内療法モデルにおける S1P の血管新生促進と象牙質様硬組織形成への関与

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

○廣瀬陽菜¹, 北川槇弓¹, 松本和磨¹, 藤政清志朗¹, 金丸慎吾¹, 松本典祥¹, 松崎英津子^{1,2}

Involvement of sphingosine-1-phosphate in angiogenesis and dentin-like hard tissue formation in a rat regenerative endodontic procedure

¹Section of Operative Dentistry and Endodontology, Department of Odontology, Fukuoka Dental College,
²Oral Medicine Research Center, Fukuoka Dental College

○Haruna HIROSE¹, Mayumi KITAGAWA¹, Kazuma MATSUMOTO¹, Seishiro FUJIMASA¹,
Shingo KANEMARU¹, Noriyoshi MATSUMOTO¹, Etsuko MATSUZAKI^{1,2}

【目的】

再生歯内療法 (Regenerative endodontic procedure: REP)は、根尖部に存在する歯乳頭由来幹細胞 (Stem cells of the apical papilla: SCAP) を根管内へ誘導し、血餅を足場として脈管系の新生を促し、新しい組織を再生させるものである。これまでに我々は、脂質メディエーターであるスフィンゴシン-1-リン酸 (Sphingosine-1-phosphate: S1P) の受容体 S1PR1 が象牙芽細胞存在部位に高発現することを見出し、S1P/S1PR1 シグナルを介した SCAP の象牙芽細胞分化促進メカニズムの一端を報告した。近年、骨形成における血管の関与が報告されているが、とりわけ CD31 および Endomucin 共陽性を示す Type H 血管の重要性が示され、ラット REP モデルにおいても、骨様硬組織形成部位に CD31 陽性の血管系細胞観察されることが明らかとなっている。しかし、その詳細は明らかではない。S1P/S1PR1 シグナルは、血管新生にも重要な役割を果たしていることから、本研究では、ラット REP モデルを作製し、S1P/S1PR1 シグナルが象牙質様硬組織形成と血管新生に及ぼす影響について検討した。

【材料および方法】

実験には、歯根未完成である 5 週齢雄性 Wistar 系ラットを用いた。下顎第一臼歯近心根管を抜髄、根管洗浄後、根尖部を穿通し血餅と SCAP の誘導を行い (REP モデル; Edanami N. et al, Sci. Rep., 2020.)、根管内で S1P と血餅を混合させた (REP+S1P 群)。血餅上部はケイ酸カルシウム系セメントの貼付とコンポジットレジンにより封鎖した。比較として REP モデルに根管内で PBS と血餅を混合させた Control 群を作製した。処置後 28 日目に micro CT を用いて組織形成量を評価した。また、下顎骨を採取して通法に従い脱灰後、パラフィン切片を作製した。得られた組織切片は、ヘマトキシリン・エオジン (H-E) 染色ならびに免疫組織化学染色を行った。免疫染色では、S1PR1 に加えて、象牙芽細胞マーカー (Dentin sialoprotein; DSP)、血管系マーカー CD31、ならびに SCAP マーカーである CD24、CD56 を用い、治癒形態および形成組織の評価を行った。本研究は、福岡歯科大学実験動物委員会の承認を得て実施した (承認番号: 20017)。

【結果・考察】

micro CT 解析において、REP+S1P 群は Control 群と比較して硬組織形成量の増加傾向を示し、S1P の併用は REP における硬組織形成を促進する可能性が示された。H-E 染色においても、両群で硬組織形成が確認されたが、REP+S1P 群ではより成熟した硬組織形成が示唆された。免疫組織学的解析では、両群において SCAP マーカー CD24 および CD56 陽性細胞は根管壁に認められた。この結果は、REP モデルにおいて根尖部由来 SCAP が根管内へ誘導され、象牙質・歯髄複合体形成に関与した可能性を示唆している。一方、REP+S1P 群では、根管壁における S1PR1 陽性細胞および象牙芽細胞マーカー DSP 陽性細胞が Control 群と比較して増加傾向を示したことから、S1PR1 シグナルが SCAP あるいは歯髄由来前駆細胞の象牙芽細胞様分化を促進した可能性が考えられた。加えて、REP+S1P 群では血管系マーカー CD31 陽性細胞も増加したことから、S1P/S1PR1 シグナルが血管新生に関与した可能性も示唆された。しかしながら、本研究のみでは S1P/S1PR1 シグナルによる血管形成と象牙芽細胞分化との因果関係を明確に示すことはできない。今後、血管成熟や分化マーカーを含む詳細な解析を行うことで、REP における S1P/S1PR1 シグナルの作用機序をより明確にする必要がある。

【結論】

S1P を併用した REP は、新生硬組織形成を促進する可能性が示された。一方で、S1P/S1PR1 シグナルの血管形成と象牙芽細胞分化への作用機序および長期的な機能評価については、今後さらなる検討が必要である。

マウス根尖性歯周炎モデルの組織学的変化

○山口 穂佳¹, 高山 英次², 梅村 直己³, 河野 芳朗⁴,
永山 元彦⁵, 滝川 俊也⁶, 川木 晴美³, 河野 哲¹

¹朝日大学歯学部 口腔機能修復学講座 歯科保存学分野,

²日本薬科大学薬学部 生化学・免疫学・微生物学講座,

³朝日大学歯学部 口腔構造機能発育学講座 口腔生化学分野, ⁴口腔解剖学分野,

⁵朝日大学歯学部 口腔病態医療学講座 口腔病理学分野

⁶朝日大学

Histological changes in apical periodontitis on murine model

○Honoka Yamaguchi¹, Eiji Takayama², Naoki Umemura³, Yosirou Kawano⁴, Motohiko Nagayama⁵,

Toshiya Takigawa⁴, Harumi Kawaki³, Satoshi Kawano¹

¹Department of Endodontics, Division of Oral Functional Science & Rehabilitation, Asahi University School of Dentistry

²Department of Biochemistry, Immunology & Microbiology, School of Pharmacy, Nihon Pharmaceutical University

³Department of Oral Biochemistry, Division of Oral Structure,

⁴Department of Oral Anatomy, Division of Oral Structure, Function, & Development, Asahi University School of Dentistry

⁵Department of Oral pathology, Division of Oral Pathogenesis & Disease Control, Asahi University School of Dentistry,

⁶Asahi University

【目的】

根尖性歯周炎が免疫系を介し様々な全身疾患に影響することが示唆されている。マウスは純系化や免疫系の解析が進んでおり、全身疾患モデル系統も豊富であることから、遺伝的背景の統一が容易で様々な全身疾患の免疫系や病態への影響の検討に適している。そこで、根尖性歯周炎の進行に伴う免疫系や全身疾患への影響の検討のため、まず動物モデルの根尖性歯周炎の組織学的変化について報告する。

【方法】

本学動物施設において通常固形飼料により5週齢の雌C57BL/6J Jms系統マウスを1週間馴化飼育し用いた。麻酔後、顕微鏡下で上顎両側第一臼歯をダイヤモンドポイントにより露髄させたAP群と、歯牙表層のみを切削したSham群を設定した。露髄から1, 3, 6週間飼育後体重測定を行い、屠殺後、上顎骨を採取してホルマリン固定およびコンピュータ断層撮影/CT撮影を行った。また脱灰後パラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン-エオジン/HE染色、および酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ/TRAP染色を施し、根尖部および分岐部病変の観察を行った。なお、本研究は朝日大学歯学部動物実験専門委員会の承認(24-060)を得て実施している。

【結果】

実験飼育期間を通じて、AP群とSham群との間で有意な体重変化は認められなかった。CT像より、本モデルにおいて骨吸収の進行は根尖部と比較し分岐部で早期かつ顕著に認めた。AP群では露髄1週後に根尖部歯根膜腔の拡大と分岐部にわずかな透過像を、3週後に根尖部透過像と分岐部に顕著な透過像を、そして6週後には根尖部、分岐部いずれの透過像においてもさらなる拡大を認めた。HE染色像では、髄腔内における歯髄壊死は露髄1週後では歯冠部に限局していたが、3週後には根尖側1/3まで、6週後には根尖まで認めた。また、歯周組織における炎症性細胞浸潤は露髄1週後に分岐部、3週後に分岐部と歯根膜全体、6週後にはそれらのさらなる拡大を認め、歯槽骨吸収部には肉芽組織の形成を認めた。露髄3週後以降では、分岐部における外部吸収像を認めた。TRAP染色像では、Sham群と比較しすべてのAP群で歯槽骨吸収部位に破骨細胞/破歯細胞を多く認めた。

【考察】

本研究において歯髄や歯周組織の経時的な炎症性変化を明らかにしたことは、根尖性歯周炎が全身へ及ぼす影響や、全身疾患が根尖性歯周炎に及ぼす影響を検討する際に歯周組織でどのような局所の変化が生じているかを示す基準の一つになると考えられる。また、根尖性歯周炎の進行に伴い炎症性細胞の浸潤と肉芽組織の形成に変化を認めたことは、炎症性細胞の量的および質的な変化と肉芽組織内の血管新生を示唆している。これまでも根尖性歯周炎の動物モデルにおいて病変部に浸潤する骨髄系細胞の量的および質的違いを可視化した病態像や、浸潤T細胞の質的同定を定量的ポリメラーゼ連鎖反応/qPCR法により示唆した報告がある。本モデルにおいても、浸潤している炎症性細胞の量的および質的な変化や血管新生などを詳細に明らかにすることで、根尖性歯周炎の全身への影響について検討が可能と考えられる。

う蝕由来歯髄炎ラットモデルを用いた S100A8 由来ペプチドの抗炎症作用の評価

大阪大学大学院 歯学研究科 歯科保存学講座
○中谷 公貴, 岡本 基岐, 渡邊 昌克, 森山 輝一,
何 璐彤, 于 伝琦, 高橋 雄介, 林 美加子

Evaluation of the anti-inflammatory effects of an S100A8-derived peptide in a caries-induced rat pulpitis model

Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Graduate School of Dentistry, The University of Osaka
○Nakatani Koki, Okamoto Motoki, Watanabe Masakatsu, Moriyama Kiichi, He Lutong, Yu Chuanqi,
Takahashi Yusuke, Hayashi Mikako

【目的】

従前より歯髄保存療法の適応外であった不可逆性歯髄炎に対し、炎症制御と組織修復を促して歯髄保存療法が可能となれば、根管治療数の減少に大きく貢献できる。われわれは、歯髄創傷治癒促進作用を持つ Protein S100A8 由来ペプチドを同定、本ペプチドが抗炎症作用を持つ可能性を示した (第 161 回日本歯科保存学会学術大会)。本研究では、同ペプチドの抗炎症作用について詳細に検討し、不可逆性歯髄炎に対する歯髄保存の可能性を探索した。

【材料・方法】

実験 1: う蝕由来可逆性・不可逆性歯髄炎ラットモデルに対する実験ペプチドの抗炎症作用の評価

本研究は大阪大学大学院歯学研究科動物実験委員会の承認下で実施した (承認番号: 動歯 R-01-017-1)。Sprague-Dawley ラットにう蝕原性細菌を接種し、う蝕および継発する歯髄炎を惹起した。可逆性および不可逆性歯髄炎罹患歯に Protein S100A8 由来ペプチド (実験ペプチド) を用いて直接覆髄をおこない、4 週後に μ CT による硬組織形成評価ならびに H-E 染色および炎症性細胞マーカーである CD43 免疫組織化学染色による病理組織学的評価をおこなった (n=6)。また、不可逆性歯髄炎に実験ペプチドを用いて直接覆髄 1, 3 日後、汎用マクロファージマーカー (CD68) および M2 マクロファージマーカー (Arg-1) の免疫蛍光染色を実施し、マクロファージの分化について評価した (n=6)。対照群として PBS にて直接覆髄をおこなったものを用いた。

実験 2: 実験ペプチドの抗炎症作用およびマクロファージ分化に与える影響の評価

C57BL / 6J マウス大腿骨より、骨髄由来マクロファージ (BMDM) を調製し、LPS 刺激後、実験ペプチドを作用させ、1 時間後にトータル RNA を回収、M1 および M2 マクロファージマーカーの mRNA 発現量を qPCR により評価した (n=3)。対象群は LPS 処理群および未処理群に対して実験ペプチドを添加しないものを用いた。

実験 3: 不可逆性歯髄炎ラットモデルに対する実験ペプチド含有 MTA を用いた直接覆髄実験

不可逆性歯髄炎罹患ラットに対して、実験ペプチド含有 PBS を ProRoot MTA (Dentsply Sirona) (MTA) と練和したものをを用いて直接覆髄をおこなった。4 週後に μ CT による硬組織形成評価ならびに H-E 染色および CD43 免疫組織化学染色による病理組織学的評価をおこなった (n=6)。対照群は MTA を PBS で練和したものをを用いた。

統計学的有意差は、硬組織形成評価は Kruskal-Wallis 検定、CD43 免疫組織化学染色による炎症評価およびマクロファージ分化評価は Student's *t* 検定を用いた。qPCR 評価は One way ANOVA および Tukey 検定を用いた ($\alpha = 0.05$)。

【結果】

可逆性歯髄炎への覆髄 4 週後において、硬組織形成量は実験ペプチド群と対照群の間で有意差を認めず、病理組織学的観察において両群とも均一な硬組織形成を示し、炎症反応は認めなかった。一方、不可逆性歯髄炎では、硬組織形成量に有意差はないものの、H-E 染色において実験ペプチド群では均一な第三象牙質形成が観察されたのに対し、対象群では疎な硬組織構造を認め、CD43 陽性細胞が有意に多く観察された ($p < 0.05$)。免疫蛍光染色では、実験ペプチド群では対照群と比べ、覆髄 1, 3 日後の M2 マクロファージ数が有意に増加した ($p < 0.01$)。BMDM を用いた qPCR 解析において、実験ペプチド作用群で M1 マクロファージマーカーの発現は有意に低下し、M2 マクロファージマーカーの発現が有意に上昇した ($p < 0.05$)。実験ペプチド含有 MTA を用いた直接覆髄においては、実験 1 と同様に実験ペプチド群では良好な硬組織形成を認め、CD43 陽性細胞が有意に少なかった ($p < 0.05$)。

【考察および結論】

実験ペプチドは歯髄炎に対して、マクロファージの M2 サブタイプ分化を促進するとともに、炎症性細胞の集積を減少させることで、抗炎症作用を発揮し、不可逆性歯髄炎を回復させる可能性が示された。

本研究は JSPS 科学研究費 (23K24526, 23K15999, 24K23579, 25K20284) の助成を受けたものである。

LPS 刺激ヒト歯髄幹細胞における IL-6/IL-8 と CXCL10 の Oxytocin による差別的制御

1 広島大学大学院医系科学研究科 歯髄生物学研究室

2 ノバサウスイースタン大学歯学部 口腔科学・トランスレーショナル研究学科

○三宅 七海¹、熊谷 友樹¹、Nguyen Chi Duc¹、進藤 智²、武田 克浩¹、柴 秀樹¹

Differential regulation of IL-6/IL-8 and CXCL10 by Oxytocin in LPS-stimulated human dental pulp stem cells

1. Department of Biological Endodontics, Graduate School of Biomedical and Health Sciences, Hiroshima University

2. Department of Oral Science and Translational Research, College of Dental Medicine, Nova Southeastern University

○Nanami Miyake¹, Tomoki Kumagai¹, Nguyen Chi Duc¹, Satoru Shindo², Katsuhiko Takeda¹, Hideki Shiba¹

【緒言】

歯髄炎は、細菌感染に対する生体防御反応によって惹起される炎症性疾患である。歯髄組織では免疫細胞に加え、歯髄構成細胞である歯髄幹細胞も多様な炎症関連メディエーターを産生し、炎症反応の進展や波及に寄与する。炎症性サイトカインには、急性炎症の初期反応で重要なものと、慢性炎症や持続的な免疫応答に深く関与するものがある。前者の代表としてインターロイキン (IL) -6、IL-8 (Feghali and Wright, 1997; Tanaka et al., 2014; Harada et al., 1994)、後者の代表として Th1 型免疫応答により産生が促進されるケモカイン CXCL10 (Lee et al., 2017) が知られている。LPS は炎症歯髄組織中に存在することが報告されており、また、下垂体ホルモンである Oxytocin (OX) は関節リウマチモデルマウスにおいて血中濃度が上昇することが示されている。私たちはこれまでに、炎症歯髄において OX 受容体発現が上昇していること、さらに OX が TNF- α 刺激ヒト歯髄幹細胞 (hDPSC) における CXCL10 産生促進を抑制することを明らかにしてきた (Kumagai et al., 2022)。本研究では、炎症時に異なる役割を担うサイトカイン発現に着目し、歯髄炎の進行様式における OX の機能解明を目的として、OX が LPS 刺激 hDPSC における IL-6、IL-8、CXCL10 発現に及ぼす影響と、その細胞内シグナル伝達機構を検討した。

【材料および方法】

供試細胞: Lonza 社から購入した hDPSC を 10%FBS を含む MEM- α 培地にて培養し、5 から 10 代継代細胞を用いた。
受容体発現: OX の受容体を蛍光免疫染色によって調べた。

細胞傷害性: OX による hDPSC の細胞傷害性を WST-8 Assay によって評価した。

サイトカイン発現: OX 存在下または非存在下で hDPSC を *E. coli* 由来 LPS で刺激し、IL-6、IL-8、CXCL10 の遺伝子発現を qPCR、タンパク質産生量を ELISA で測定した。また、OX 受容体拮抗薬である Atosiban の影響を調べた。

細胞内シグナル伝達: MAPK (p38、ERK、JNK)、NF- κ B、Akt の各阻害剤で前処理後に LPS 刺激を行い、サイトカイン発現を同様に解析した。また、シグナル因子のリン酸化を Western blot で評価した。

【結果】

- ・ hDPSC は OX 受容体を発現し、0.5~5,000 ng/mL の OX は hDPSC に対して細胞傷害性を示さなかった。
- ・ OX は LPS 刺激によって上昇した IL-6 および IL-8 の遺伝子・タンパク質発現をさらに促進した。一方、CXCL10 発現は抑制した。Atosiban は OX によるこれらの発現変化を抑制した。
- ・ LPS 刺激 hDPSC の炎症性サイトカイン発現において、MAPK p38 と Akt の阻害剤は IL-6 と CXCL10 発現を抑制、ERK 阻害剤は IL-6 発現を抑制、CXCL10 発現を促進、NF- κ B 阻害剤は IL-6、IL-8、CXCL10 発現を抑制した。
- ・ OX は LPS によって活性化された ERK、NF- κ B のリン酸化を促進した。

【考察】

本研究により、OX は LPS 刺激 hDPSC において IL-6 および IL-8 発現を促進する一方、CXCL10 発現を抑制するという、サイトカインごとに異なる調節作用を示すことが明らかとなった。また、OX の作用には ERK および NF- κ B を中心とした複数の細胞内シグナル経路が関与しており、これらの作用は OX 受容体を介した直接的なものであることが示された。これらの結果から、OX は歯髄炎症環境下にある hDPSC においてサイトカイン産生のバランスを変化させることで、急性炎症から慢性炎症への移行や炎症の持続性に影響を及ぼす可能性が示唆された。OX は歯髄炎の病態制御に関与する新たな調節因子となり得る。

ERp46によるヒト歯髄細胞の炎症性サイトカイン発現制御

広島大学 大学院医系科学研究科 歯髄生物学研究室

○高橋 洋平, 武田 克浩, 成瀬 友哉, 河合 玲奈, 由比 公顕, 熊谷 友樹, 中西 惇, 柴 秀樹

Regulation of Inflammatory Cytokine Expression in Human Dental Pulp Cells by ERp46

Department of Biological Endodontics, Graduate School of Biomedical and Health Sciences

○Yohei Takahashi, Katsuhiko Takeda, Tomoya Naruse, Reina Kawai, Kimiaki Yuhi,

Tomoki Kumagai, Jun Nakanishi and Hideki Shiba

【目的と背景】

歯髄の保存は、抜髄に伴う医原性因子（穿孔など）の発生や根尖性歯周炎の発症を回避し、歯の機能を長期に維持する上で非常に重要である。Endoplasmic reticulum protein 46 (ERp46) は、小胞体に存在するPDIファミリーに属する酸化還元酵素であり、タンパク質の酸化修飾やIP3受容体の酸化修飾を通じて細胞の恒常性維持に寄与することが知られている。ERp46は2型糖尿病、動脈血栓症、非アルコール性脂肪肝炎、悪性腫瘍などの全身疾患と関連があることが報告されている。しかしながら、ERp46の歯髄炎への関与は不明である。本研究は、ERp46の歯髄における炎症制御能を明らかにすることを目的とし、ヒト歯髄細胞(hDPCs)における炎症性サイトカイン発現への影響を検討した。

【方法】

1. 供試細胞：ヒト歯髄細胞(hDPCs)は、Lonzaから購入し、10% Fatal Bovine Serum (Gibco)を含有するD-MEMを用いて培養した。
2. ERp46の細胞毒性の検討：細胞培養用96wellプレート(Corning)でhDPCsを培養した。コンフルエントに達したhDPCsに対し、ERp46(0, 1, 10, 100 ng/mL)を24時間作用し、Cell Counting Kit-8(DOJINDO)を用いて細胞生存率を評価した。
3. LPSによって誘導されるhDPCsの炎症性サイトカイン発現の検討：細胞培養用6wellプレート(Corning)でhDPCsを培養した。コンフルエントに達したhDPCsに対し、LPS(1.0 µg/mL)を培養終了3, 6, 12, 24時間前に無血清下で作用し、リアルタイムPCRによって炎症性サイトカイン(IL-6, IL-8)のmRNA発現を解析した。
4. LPSによって誘導されたhDPCsの炎症性サイトカインmRNA発現に及ぼすERp46の影響：細胞培養用6wellプレート(Corning)でhDPCsを培養した。コンフルエントに達したhDPCsに対し、無血清下でERp46(10, 100 ng/mL)およびLPS(1.0 µg/mL)を3時間同時に作用させ、リアルタイムPCRによってIL-6, IL-8のmRNA発現を解析した。また、IP3受容体の阻害剤である2-aminoethoxydiphenyl borate(2-APB, 10 µM)を用いて同様の実験を行った。
5. LPSによって誘導されたhDPCsのIL-8タンパク質産生に及ぼすERp46の影響：細胞培養用6wellプレート(Corning)でhDPCsを培養した。コンフルエントに達したhDPCsに対し、無血清下でERp46(10, 100 ng/mL)およびLPS(1.0 µg/mL)を24時間同時に作用させ、ELISAによって培養上清中のIL-8のタンパク質量を測定した。

【結果】

1. ERp46(0.1, 1, 10, 100 ng/mL)は、hDPCsに対して細胞毒性を示さなかった。
2. LPS刺激を受けたhDPCsでは、刺激後3時間をピークとしてIL-6, IL-8のmRNA発現が有意に上昇した。
3. ERp46は、LPSによって誘導されたIL-6, IL-8のmRNA発現を有意に抑制した。一方、2-APBはLPSによって誘導されたIL-6, IL-8のmRNA発現を有意に促進した。
4. ERp46は、LPSによって誘導されたIL-8のタンパク質産生量を有意に減少させた。

【考察】

本研究により、ERp46はLPS刺激下においてhDPCsの炎症性サイトカイン発現を抑制することが明らかとなった。これらの結果から、ERp46はIP₃受容体を介して歯髄細胞に抗炎症的に作用する調節因子であり、将来的に歯髄炎治療薬の開発につながる可能性が示唆された。

炎症環境下における BG-β TCP 刺激は歯髄幹細胞の Ca²⁺ 応答性を増強する

九州歯科大学 歯科保存再生治療学講座

口腔保存治療学分野

○折本 愛、村田一将、北村知昭

Enhanced Ca²⁺ responses to BG-βTCP stimulation in inflammation-primed dental pulp stem cells

Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Department of Regenerative Science in
Conservative Dentistry, Kyushu Dental University

○ORIMOTO Ai, MURATA Kazumasa and KITAMURA Chiaki

【目的】

象牙質・歯髄複合体および根尖周囲組織の創傷治癒を誘導する生体材料の開発を目的として、我々は生体適合性に優れた生体活性セラミックスである Bioactive Glass (BG) に着目し、BG 配合した生体材料の開発を進めてきた。一方で、歯髄炎などの炎症状態において、BG 由来刺激が歯髄幹細胞の Ca²⁺ シグナリングや細胞応答に及ぼす影響については十分に解明されていない。本研究では、無限分裂ヒト歯髄幹細胞 (Tet-off K4DT 細胞) を用い、炎症性サイトカイン TNF-α 存在下における BG-β TCP 複合粒子 (BG と生体吸収性セラミックスである β TCP の特性を併せ持つ複合粒子) 抽出液刺激が歯髄幹細胞の遺伝子発現および Ca²⁺ 応答に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】

1. 細胞培養および炎症刺激: 無限分裂ヒト歯髄幹細胞 (Tet-off K4DT 細胞: ヒト歯髄幹細胞 PT-5025 (Lonza 社) 由来) を DMEM (10% FBS, 1%, Penicillin/Streptomycin) にて培養した。炎症環境を模倣するため、TNF-α (10 ng/mL) を添加した条件下で各実験を行った。
2. BG-β TCP 抽出液の調製および添加: BG と β TCP の比率 (BG : β TCP = 4 : 1, 1 : 1, 1 : 4) で混合し、焼成・粉砕して作製された BG-β TCP 複合粒子 (BG : β TCP = 4 : 1, 1 : 1, 1 : 4 を各々 B4T1, B1T1, B1T4 と表記) に対して培地または Ca²⁺ イメージングバッファーを加え、37°C、5%CO₂ 条件下で 24 時間静置した。その後、filtration することで BG-β TCP 抽出溶媒を調製した。得られた抽出溶媒を用いて各種実験を行った。
3. 細胞生存率の評価: BG-β TCP 抽出液添加後の細胞生存率を評価し、材料刺激による細胞毒性の有無を検討した。
4. Ca²⁺ イメージング解析: Fura-2 を用いた Ca²⁺ イメージング解析により、BG-β TCP 抽出液刺激に対する細胞内 Ca²⁺ 応答を評価した。TNF-α 存在下および非存在下における Ca²⁺ 応答の変化を比較解析した。
5. 遺伝子発現解析 (RT-qPCR): Ca²⁺ 応答および炎症・細胞機能に関連する遺伝子の発現量を解析した。

【結果】

BG-β TCP 抽出液は細胞毒性を示さず、TNF-α により炎症プライミングされた無限分裂ヒト歯髄幹細胞において Ca²⁺ 応答を有意に増強した。RT-qPCR 解析では、TNF-α 刺激により炎症関連遺伝子 *IL6* および *PTGS2 (COX2)* の発現が有意に上昇し、TNF-α 存在下で BG-β TCP 抽出液を添加した条件では、*IL6* 発現は B1T1 および B1T4 条件で追加的な上昇を示し、*COX2* 発現は B1T4 条件で有意に増加した。一方、これらの変化はすべての組成で一貫して認められるものではなかった。血管新生関連遺伝子 *VEGFA* は TNF-α 単独刺激では有意な変化を示さず、BG-β TCP 抽出液添加下においても一部条件で軽度の変化が認められたものの、その変化量は限定的であった。一方、修復関連因子である *bFGF (FGF2)* は TNF-α 刺激により上昇し、BG-β TCP 抽出液添加により B1T1 および B1T4 条件でさらに増強された。また、低酸素応答因子 *HIF1A* および機械刺激感受性チャネル *PIEZO1* の発現は、TNF-α 刺激の有無による変化を示さなかった。

【考察】

炎症プライミングにより歯髄幹細胞の刺激感受性が変化し、BG-β TCP 由来刺激に対する Ca²⁺ 応答が増強された可能性が示唆された。炎症関連遺伝子の変化は一部の BG-β TCP 組成に限られて認められ、すべての条件で一様に増強されるものではなかった。このことから、BG-β TCP 刺激は炎症反応そのものを増幅するのではなく、炎症下における細胞機能応答を選択的に調節している可能性が示唆される。

【結論】

新たに開発した BG-β TCP 複合粒子は、炎症下歯髄幹細胞における Ca²⁺ 応答を増強し、組織修復関連応答に関与する可能性を示唆した。

各種イオン混合溶液によるヒト歯髄幹細胞の増殖と分化誘導効果

日本歯科大学新潟生命歯学部 歯科保存学第2講座
○宮野 侑子、佐藤 史明、鈴木 雅也

Effects of mixed solutions of various ions on the proliferation and differentiation of human dental pulp stem cells

Department of Operative Dentistry, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata
○MIYANO Yuko, SATO Fumiaki, SUZUKI Masaya

【緒言】

6種のイオンを徐放する Surface Pre-reacted Glass-ionomer (以下 S-PRG) フィラーが配合されたコンポジットレジン (以下 CR) が臨床で使用されている。当講座では、ラット歯の露髄面に S-PRG フィラー配合 CR を適応した研究において、第三象牙質の形成が促進される所見を認めたことから、イオン徐放性 CR 覆髄剤の開発に向けた研究を進めている。これまでに、ヒト歯髄幹細胞 (Human Dental Pulp Stem Cells、以下 hDPSC) と生体外の細胞培養モデルを用いた研究¹⁾で、S-PRG フィラーから徐放されるイオンのうち、 Sr^{2+} (以下 Sr) または SiO_3^{2-} (以下 Si) の添加が象牙芽細胞様細胞 (Odontoblast-Like Cells、以下 OLC) への分化を、 $\text{B}_3\text{O}_3^{3-}$ (以下 B) の添加が硬組織の形成を促すことを報告した。しかし、複数のイオンが混在した場合の影響については、いまだ解明されていない。

本研究の目的は、hDPSC の OLC への分化と硬組織形成を誘導する最適なイオンの混合比率を検索するため、イオン混合溶液による hDPSC の増殖効果と OLC への分化誘導効果を評価することである。

【材料と方法】

(1) 細胞培養：10%ウシ胎児血清を含むダルベッコ改変イーグル培地に、継代数 4~5 代目の hDPSC (Lonza) を $1.0 \times 10^4/\mu\text{L}$ の濃度で播種し、30%コンフルエンスになるまで培養した。各イオンは、(株)松風より 50 mM に調整済みの溶液の提供を受けた。培地に添加した各イオン溶液の濃度 (mM) は、予備実験に基づき、Sr が 0.25、Si が 1.0、B が 0.05 とした。実験群は、単一イオン群 (Sr、Si、B) と、イオン混合群として Sr+B (SrB)、Sr+Si (SrSi)、B+Si (BSi)、Sr+B+Si (SrBSi) を調整した。対照群はイオン非添加とした。

(2) 細胞増殖試験：イオン添加後 3 日 (D3)、D5、D7、D10、D14、D21、D28 の培地に、10%の alamarBlue® (Invitrogen) を添加して 90 分間インキュベートした後、SpectraMaX iD3 (Molecular Devices) を用いて蛍光測定した。細胞数は、検量線に従って算出した。得られたデータは、培養期間ごとに Scheffe's post-hoc test を用いて統計的に検定した ($\alpha = 0.05$)。

(3) 免疫細胞化学：イオン添加後 D21、28 の細胞に対して、一次抗体として抗 DSPP 抗体と抗 DMP-1 抗体、二次抗体として Alexa Fluor488 を使用した。核は DAPI を用いて対比染色した。観察は共焦点レーザー顕微鏡 (LSM900, Carl Zeiss) を使用した。

【結果と考察】

細胞数は D7 から経時的に増加し、D21 でピークを示す傾向が認められた。Sr は D7、D10、D21 で対照群と比較して有意に高い増殖を示した。一方、イオン混合群では対照群と比較して有意な細胞数の増加は認められなかった。免疫細胞化学の結果、対照群では DMP-1 と DSPP の明らかな発現は認められなかった。DMP-1 は D21 で Sr、D28 で Sr、Si、SrB および SrSi で発現を認めた。DSPP は D21 と D28 のすべての実験群で発現を認めた。

細胞数の経時的な変化は、hDPSC の OLC への分化段階を間接的に反映していると考えられる。すなわち、イオンを混合した場合に明らかな増殖促進効果が認められなかったことは、少なくとも増殖とは異なる細胞周期を誘導している可能性がある。さらに、象牙芽細胞マーカーである DMP-1 と DSPP の発現が認められたことから、イオンの混合による hDPSC の OLC への分化誘導効果が示唆された。

本研究は JSPS 科研費 23K19760 の助成を受けたものである。

参考文献：1) Miyano Y et al., Biol Trace Elem Res. 201: 5585-5600, 2023.

ドーパミン I 型様受容体の作動薬がヒト歯髄幹細胞の象牙芽細胞様分化に及ぼす影響

¹九州大学大学院歯学研究院口腔機能修復学講座歯科保存学研究分野、²九州大学病院歯内治療科
○添野芹奈¹、杉井英樹¹、糸山知宏²、田下滉大¹、Bara Mardini¹、橘涼介¹、
Ömer Tark Özdemir¹、那須佳音¹、Mhd Safwan Albougha¹、前田英史^{1,2}

Effects of dopamine type I-like receptor agonists on odontoblastic differentiation of human dental pulp stem cells

¹Department of Endodontology and Operative Dentistry, Division of Oral Rehabilitation, Faculty of Dental Science, Kyushu University, ²Department of Endodontics, Kyushu University Hospital
○Serina Soeno¹, Hideki Sugii¹, Tomohiro Itoyama², Koudai Tashita¹, Bara Mardini¹, Ryosuke Tachibana¹,
Ömer Tark Özdemir¹, Kanon Nasu¹, Mhd Safwan Albougha¹, and Hidefumi Maeda^{1,2}

【背景と目的】

第三象牙質の形成は、深在性う蝕、歯の切削、修復処置等の刺激に対する歯髄細胞の防御反応として広く認識されており、原生象牙質や第二象牙質の形成とは形態学および生物学的にも異なっている。第三象牙質に含まれる修復象牙質は、主に歯髄幹細胞から分化した象牙芽細胞様細胞によって形成されるが、その臨床的重要性にもかかわらず、修復象牙質形成の生物学的メカニズムは明らかにされていない。私たちはこれまでに、ドーパミン(DA)がラット歯髄組織の象牙芽細胞層に発現し(Fujino *et al.*, 2019)、DAがヒト歯髄幹細胞の象牙芽細胞様分化を促進することを報告している(Fujino *et al.*, 2023)。また私たちは、ドーパミンI型様受容体の阻害剤がラット象牙芽細胞様細胞の分化を抑制することを明らかとしたが(Fujino *et al.*, 2019)、DAが象牙芽細胞様分化を調節する詳細な分子メカニズムは明らかにされていない。そこで本研究では、ドーパミンI型様受容体に着目し、DAによる歯髄幹細胞の象牙芽細胞様分化促進のメカニズムを解析することで、修復象牙質形成の生物学的メカニズムの一端を明らかにすることとした。

【材料と方法】

10%Fetal Bovine Serum含有の α -MEM (10%FBS/ α -MEM)を維持培地として、ヒト歯髄幹細胞(HDPSCs, RIKEN)を継代培養し用いた。①免疫細胞染色法および免疫組織化学的染色法を用いて、HDPSCsおよびラット歯髄組織における、ドーパミンI型様受容体(DRD1およびDRD5)の発現を解析した。②ドーパミンI型様受容体の作動薬であるSKF38393にて刺激したHDPSCsを用いて、WST-1法にてHDPSCsの細胞増殖に及ぼす影響を解析した。③SKF38393によって刺激したHDPSCsの石灰化および象牙芽細胞関連因子の発現に及ぼす影響を、Alizalin red S染色法および定量的RT-PCR法を用いて解析を行った。

【結果】

①免疫細胞染色法および免疫組織化学的染色法の結果より、HDPSCs、ラットの歯髄組織および象牙芽細胞層においてDRD5の発現が認められた一方で、DRD1の発現は認められなかった。②1 ng/ml~10 μ g/mlの濃度のSKF38393にて刺激したHDPSCsにおいて、細胞増殖に変化はなく、非刺激群と同等であった。③SKF38393で刺激したHDPSCsは、非刺激群と比較して、石灰化および象牙芽細胞関連因子の発現が亢進する傾向を示した。

【考察】

本研究により、HDPSCs、ラットの歯髄組織および象牙芽細胞層において、DRD5の発現が確認されたことより、DAによるドーパミンI型様受容体の活性化には、DRD5が関与している可能性が示唆された。SKF38393は1 ng/ml~10 μ g/mlの濃度では、HDPSCsに対して細胞毒性は示さなかった。さらに、SKF38393はHDPSCsの象牙芽細胞様分化を促進することが示唆された。したがって、DAによるHDPSCsの象牙芽細胞様分化促進には、I型様受容体が関与していることが推察された。

ヒト歯髄培養細胞における BMP-1 の dynamin 依存性エンドサイトーシスを介した IGFBP5 発現制御機構

神奈川歯科大学 歯科保存学講座 歯内療法学分野
○石井孝幸、市田佳子、室町幸一郎

Regulation of IGFBP5 expression by dynamin-dependent endocytosis of BMP-1 in human dental pulp cells

Department of Endodontics, Kanagawa Dental University
○ISHII Takayuki, ICHIDA Yoshiko, MUROMACHI Koichiro

【目的】

Insulin like growth factor binding protein (IGFBP) 5 は IGFBP family に属する分泌タンパク質で、Insulin like growth factor (IGF) と高い結合能を有し IGF の機能を調節する役割をもつことが報告されている。発生期の歯や外傷歯の歯髄において IGFBP5 は幹細胞の恒常性の維持に関与する可能性が示唆されている。しかし、IGFBP5 の発現が象牙質-歯髄複合体においてどのように調節されているかは不明である。Bone morphogenetic protein (BMP) -1 は Astacin protease family に属するプロテアーゼである。これまでの研究から、ヒト齶蝕歯の象牙質-歯髄複合体において BMP-1 の発現が亢進し、ヒト歯髄培養細胞 (human dental pulp cells (以下、hDPCs)) において BMP-1 は dynamin 依存性エンドサイトーシスにより細胞内へ取り込まれることを明らかにした (Muromachi *et al.*, 2015)。本研究はヒト歯髄培養細胞における IGFBP5 の発現調節機構に BMP-1 が及ぼす影響を解明することを目的とした。

【材料および方法】

本研究は神奈川歯科大学倫理委員会の承認を得て行った(承認番号: 277)。

- 1) 細胞培養: 治療目的で抜歯予定の患者に研究のインフォームドコンセントを行い、同意後に抜去された健全歯から歯髄を抽出したのち、2~3代継代培養した細胞を hDPCs として実験に用いた。
- 2) Western blotting: hDPCs を組換えヒト BMP-1(rhBMP-1, 50-500 ng/mL)で 0, 1, 24, 48, 72, 120, 168 時間処理した後に whole cell lysate を回収した。阻害剤実験では、dynamin の GTPase 活性阻害剤である dynasore (300 μ M) で 30 分間の前処理をしたのちに BMP-1 処理をおこなった。タンパク質サンプルを SDS-PAGE にて展開後、ニトロセルロース膜へ転写し、anti-IGFBP5 抗体を一次抗体に用いて western blot による IGFBP5 の発現を解析した。
- 3) 統計解析: 統計学的有意差の検定には one-way ANOVA および Dunnett の多重比較検定を用い、有意水準 5% で統計処理を行った。

【結果】

- 1) hDPCs において、500 ng/mL rhBMP-1 で 48 時間刺激した群では、control と比較して IGFBP5 の発現低下を認めた。
- 2) hDPCs において BMP-1 による IGFBP5 の発現低下は dynasore 処理により抑制された。

【考察】

今回の結果から hDPCs における IGFBP5 の発現には BMP-1 が負の調節因子として関与している可能性が考えられた。またその過程において dynamin 依存的な BMP-1 のエンドサイトーシスが関与することが示唆された。重度な損傷を受けた歯髄において新たに象牙芽細胞様細胞へと分化し得る低増殖性細胞集団に IGFBP5 が強く発現することが報告されており、BMP-1 が IGFBP5 の発現ピークを調節することで歯髄の創傷治癒過程を時間的/細胞集団特異的に制御する可能性が考えられた。

【謝辞】 本研究は、令和7年度科学研究費補助金(基盤研究(C) No. 24K12954)により行った。

EZH2 は Wnt シグナル経路を介して培養ラット歯髄細胞における象牙質形成を制御する

明海大学歯学部機能保存回復学講座保存治療学分野
○加藤 邑佳, 橋本 里歩, 横瀬 敏志

Photobiomodulation-Induced Epigenetic Regulation of Dentinogenesis in Cultured Rat Dental Pulp Cells

Division of Endodontics and Operative Dentistry
Department of Restorative and Biomaterials Sciences, Meikai University School of Dentistry
○Yuka Kato, Riho Hashimoto, Satoshi Yokose

【目的】

象牙質形成は歯髄細胞の分化により制御される重要な生体反応であり、その過程には多様なシグナル伝達経路およびエピジェネティック制御機構が関与していることが知られている。ヒストンメチルトランスフェラーゼである EZH2 は、ヒストン H3K27 のトリメチル化 (H3K27me3) を介して標的遺伝子の転写を抑制するエピジェネティック因子であり、骨や他組織における石灰化過程への関与が報告されている。しかしながら、歯髄細胞における象牙質形成過程において EZH2 が果たす役割や、その分子機構については十分に明らかではない。特に、象牙質形成に重要な Wnt シグナル経路との関連性については未解明である。そこで本研究では、EZH2 がラット歯髄培養細胞の象牙質形成に及ぼす影響と、そのエピジェネティック制御機構について検討することを目的とした。

【材料および方法】

全ての実験は、明海大学実験動物倫理委員会の承認 (A2516) を得て行った。ラット下顎切歯より歯髄組織を摘出し、酵素処理法により歯髄細胞を単離し、全ての実験に使用した。EZH2 をノックアウトした細胞群 (KO 群) およびラット DNA 配列を認識しないガイド RNA を導入した対照群 (Cont 群) を作製した。各群の細胞を石灰化誘導培地にて 37°C、5% CO₂ 条件下で 2 週間培養した。石灰化結節形成はアリザリンレッド染色により評価した。さらに、トータル RNA を抽出し、*EZH2*、*DSPP*、*Wnt10a* および *Wnt6* の mRNA 発現量をリアルタイム PCR 法により解析した。

また、歯髄培養細胞を用いてクロマチン免疫沈降 (ChIP) アッセイを行い、H3K27me3 に対する抗体で免疫沈降後、*Wnt6* および *Wnt10a* のプロモーター領域を標的としたプライマーを用いて PCR を行い、電気泳動により増幅産物の有無を確認した。

統計は、各種遺伝子発現量を Kruskal-Wallis 順位検定の後、Bonferroni 補正 Mann-Whitney 検定を行った。

結果は平均値±標準偏差 (SD) で示し、有意水準を 5% で検定した。

【結果】

培養 2 週間後、KO 群では石灰化結節形成の増加が認められた。mRNA 発現解析では、KO 群において *DSPP* の発現が上昇し、さらに *Wnt6* および *Wnt10a* の発現も上昇した。ChIP アッセイの結果、H3K27me3 が *Wnt6* および *Wnt10a* のプロモーター領域に存在することが確認された。

【考察および結論】

EZH2 は *Wnt6* および *Wnt10a* のプロモーター領域における H3K27me3 を介して Wnt シグナル関連遺伝子の発現を制御し、その結果としてラット歯髄細胞の象牙質形成を抑制的に調節している可能性が示唆された。本研究は、EZH2 が象牙質形成に関与するエピジェネティック制御機構の一端を明らかにするものである。

歯内療法領域における生成 AI の臨床応用可能性に関する文献的検討

¹岡山大学学術研究院医歯薬学域 歯科保存学分野

²大阪大学大学院歯学研究科 顎口腔腫瘍外科学講座

○孟心悦¹, 大原直子¹, 濱田正和², TSAI SHINHO¹, 小野瀬里奈¹, 横山章人¹, 高橋圭¹, 神農泰生¹, 山路公造¹, 鈴木茂樹¹

A Literature-Based Examination of the Clinical Applicability of Generative AI in Endodontics

¹Department of Operative Dentistry,

Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Science

²Department of Oral & Maxillofacial Oncology and Surgery,

Graduate School of Dentistry, The University of Osaka

○MENG XINYUE¹, OHARA Naoko¹, HAMADA Masakazu², TSAI SHINHO¹, ONO Serina¹, YOKOYAMA Akihito¹, TAKAHASHI Kei¹, SINNO Yasuo¹, YAMAJI Kozo¹, SUZUKI Shigeki¹

【緒言】近年、ChatGPTに代表される生成 AI (人工知能: Artificial Intelligence, AI) の急速な普及により、医療分野において臨床応用の可能性が注目されている。歯科領域においても生成 AI の応用に関する報告が増加しているが、歯内療法は画像所見および臨床所見に基づく総合的判断や、解剖学的多様性への対応、感染制御が求められる分野であり、不正確な情報提示や不適切な判断は臨床的に重大な影響を及ぼす可能性がある。そのため、歯内療法領域における生成 AI の臨床応用については、臨床妥当性および安全性の観点からの検証が重要である。

本研究の目的は、歯内療法領域における生成 AI の応用に関する近年の文献をもとに、臨床応用の現状と課題を整理し、実臨床導入に向けた留意点を明らかにすることである。

【方法】2023年1月から2025年11月19日までの期間に公開された文献を対象として、PubMed、Scopus、Web of Science Core Collection の各データベースを用いて文献検索を行った。検索語は“endodontics” AND (“ChatGPT” OR “Gemini” OR “Claude” OR “Copilot” OR “DeepSeek”) とし、歯内療法領域における生成 AI に関連する論文を抽出した。抽出した文献について、生成 AI の使用場面および評価内容を整理・分類し、歯内療法領域における臨床応用の可能性について検討した。

【結果および考察】検索により 257 件の論文がヒットし、重複および本研究の目的に適さない論文を除外した結果、51 件を対象文献として採用した。対象文献を、教育支援、診断支援・治療方針決定、患者説明などの使用用途別に分類し、それぞれの評価内容を整理・分析した。

教育・学習支援の場面では、生成 AI は歯科専門医試験レベルの設問で合格水準を満たす成績を示す一方、歯内療法分野および画像問題では相対的に成績が低いことが報告されていた¹。一方、歯内療法における専門的判断を要する場面では、最新の大規模言語モデルであっても誤情報を含む可能性が示され、臨床的に重大な不利益を招くリスクが指摘されていた²。実際に、歯内療法の専門問題では正答率に大きなばらつきが認められ、臨床意思決定の代替として用いるには不十分であることが報告されていた³。さらに、患者向け情報提供の場面では、一般的内容に対する応答は比較的良好である一方、専門性を要する質問では性能が低下し、不正確な情報が混在することが示されていた⁴。画像情報を含む設問では正答率の低下が報告されており、歯内療法のように画像所見と臨床情報の統合が重要な領域においては、臨床妥当性および安全性の検証は十分とは言えない状況であった⁵。

以上より、生成 AI は限定的用途では一定の有用性が示されている一方、高度な判断や画像情報の統合が求められる場面では、性能のばらつきや誤情報の提示が共通して認められた。適用範囲を明確にしない使用は、臨床的リスクを伴う可能性が高いと考えられた。

【結論】歯内療法領域における生成 AI の臨床応用は、現時点では教育や情報整理など適用範囲を限定した補助的用途に留めるべきであり、診断や治療方針決定、特に画像情報を含む応用については臨床的リスクを考慮した慎重な運用が求められる。その臨床妥当性および安全性に関する検証は、一過性の評価に留めることなく、継続的に行う必要がある。

【文献】1.Sismanoglu S, Capan BS. BMC Med Educ 2025, 25(1):214.

2.Taşyürek M, et al. Healthcare (Basel) 2025, 13(20).

3.Li J, et al. Journal of Dental Sciences 2026, 21(1):191-197.

4.Zhang Q, et al. Int Dent J 2025, 75(1):151-157.

5.Morishita M, et al. J Dent Sci 2024, 19(3):1595-1600.

歯学部基礎実習における拡大鏡を用いた根管長測定用顎模型での根管処置の評価 —2021年度生, 2022年度生, 2023年度生の比較—

松本歯科大学 歯科保存学講座 (歯内)
○河村裕太, 岩崎拓也, 森川雅己, 佐々木惣平, 増田宜子

Evaluation of root canal treatment using loupes and electrical root canal length measurement training jaw model for basic practice at school of dentistry — Comparison between students in the 2021, 2022 and 2023 academic year - Department of Cariology, Endodontology and Periodontology, Matsumoto Dental University ○Yuuta Kawamura, Takuya Iwasaki, Masaki Morikawa, Souhei Sasaki, Yoshiko Masuda

松本歯科大学歯科保存学講座 (歯内) では, 歯学部第 4 学年学生に対して, 模型を手指で把持して行う根管処置実習とマネキン装着根管長測定用顎模型を用いた根管処置実習を行っている。現在, 歯科用実体顕微鏡や拡大鏡の使用が急速に普及している。歯科用実体顕微鏡や拡大鏡を自由自在に活用するためには, これらの機器の技術を習得する必要がある。2022 年度の歯内治療学基礎実習から拡大鏡を実習機材に加え, すべての実習で実際の患者を想定した精密な根管処置に近づけるよう活用することとした。

【目的】

拡大鏡を用いなかった 2021 年度と同じ患歯 (模型歯) において, 2022 年度, 2023 年度の実習を行い, 拡大鏡を用いた場合の根管処置での教育効果および手技習得の難易度について比較検討を行うこととした。

【対象と方法】

対象は 2021 年度の本学歯学部第 4 学年 (以下 2021 年度) の 81 名と, 2022 年度の本学歯学部第 4 学年 (以下 2022 年度) の 82 名, 2023 年度の本学歯学部第 4 学年 (以下 2023 年度) の 85 名とした。本研究は松本歯科大学研究倫理審査委員会の承認を得て行われた。(許可番号第 0406 号)

2022 年度以降は, 拡大鏡 (LED ライト付き) (ワイナビューフレームマーク III マルチルーペ: (株) キーラー・アンド・ワイナー, 東京) を用いて実習を行った。倍率は 2.5~3.0 倍で用いた。初めて行う根管模型実習のため, 模型を手指で把持して行う実習を歯冠付き歯内療法実習用ブロック (S3-U1 上顎中切歯: (株) ニッシン, 京都) にて行った。患歯は歯髄炎の想定の下, 規格形成法による根管拡大と側方加圧充填法による根管充填を行った。歯冠付き歯内療法実習用ブロックを用いた実習の後, 根管長測定用顎模型 (D50-END.8: (株) ニッシン) と複製根髄腔模型歯 (B22X-END #11: (株) ニッシン) によるマネキン実習を行った。実習で用いた歯は, 上顎右側中切歯, 下顎右側第一小臼歯, 上顎左側第一小臼歯, 上顎左側第一大臼歯, 下顎左側第一大臼歯である。評価に用いた歯は上顎右側中切歯である。

上下顎模型をマネキンに装着し, 患歯は歯髄炎の想定の下, ラバーダム防湿下にて抜髄を行った。過程は, 模型を手指で把持して行う実習と同様に行った。評価項目: (a) 髄室開拓 (b) 天蓋の除去 (c) ガッタパーチャポイントの切断 (d) 根管充填の緊密度と到達度, 実習試験の評価基準: 4 つの評価項目を 10 点ずつ合計 40 点満点にて評価した。各評価項目について, 2021 年度, 2022 年度, 2023 年度の学生のスコアを比較検討することで, 実習における拡大鏡と LED ライト使用の効果を検証した。統計解析には, Mann-Whitney *U* test を用いて検討し, $p < 0.05$ を統計学的有意差ありとして判定した。統計解析ソフトは IBM SPSS Statistics 19 (IBM, 日本) を用いた。

【結果】

2022 年度, 2023 年度の拡大鏡を用いた実習試験結果では, (a) 髄室開拓のスコアは 2021 年度より 2022 年度, 2023 年度ともに有意に増加した ($p < 0.001$)。また, (c) ガッタパーチャポイントの切断のスコアに関しても, 2021 年度より 2022 年度, 2023 年度において有意に増加した ($p < 0.001$)。一方, (b) 天蓋の除去は, 2021 年度から 2022 年度, 2023 年度ともに増加したが有意差は認めなかった。(d) 根管充填の緊密度と到達度は 2021 年度と 2022 年度, 2023 年度との比較では有意差は認めなかった。2023 年度に行った拡大鏡での実習が行いやすかった歯種についてのアンケート結果では, 拡大鏡での実習が行いやすかった歯種は, 「上顎中切歯」「下顎大白歯」であった。また, 拡大鏡の使用が難しかった歯種は「上顎中切歯」「上顎大白歯」であった。

【考察および結論】

第 4 学年次の根管処置の基礎実習において, 拡大鏡の使用は根管処置の手技の習得に有効であると示唆され, 拡大鏡は根管処置の学生教育において有用であることが示された。