新規ユニバーサルシェードコンポジットレジンの耐着色性

株式会社　ジーシーR&D
○茂手木 透哉，高田 大輔，平野 恭佑

Discoloration Resistance of a Novel Universal Shade Composite Resin

GC R&D CORPORATION, TOKYO, JAPAN
○Toya Motegi, Daisuke Takada, Kyosuke Hirano

【研究目的】

近年，コンポジットレジン（CR）は前歯部から臼歯部まで幅広い症例に適用されており，十分な機械的強度に加えて，多様な天然歯への色調適合性が求められている。このような背景から，弊社では一つのシェードで幅広い天然歯の色調に適合する新規ユニバーサルシェードコンポジットレジン（UCR）の開発を進めている。しかし，一般的に CR は飲食物による着色を受けやすいことが知られており，着色は患者満足度の低下や再修復の一因となる。そのため UCR の色調適合性を長期間維持するためには，優れた耐着色性が求められる。そこで本研究では主要モノマーに着目し，試作品 GCR-01 のコーヒーに対する耐着色性を市販 UCR と比較して評価した。

【材料および方法】

本試験では試作品 GCR-01（GC；Bis-MEPP 他）および市販 UCR 製品 A（UDMA 他），B（Bis-GMA 他）を使用した。各種 UCR を円盤状金型（φ15 mm，厚さ 1 mm）に充填し，LED 型歯科重合用光照射器 G-ライトプリマⅡ Plus（GC）を用いて，製造販売業者が指定する光照射時間及び光量で両面 9 か所ずつ光照射することにより硬化体を作製した。硬化体は#600 耐水研磨紙にて研磨後，ダイヤシャイン（GC）を用いて 30 秒間研磨し，分光測色計（SD 7000，日本電色）により浸漬前の測色を行った。その後，硬化体を 2%コーヒー抽出液に 37℃で 1 週間浸漬し，水洗後に再度測色を行った。浸漬前後の色差（ΔE*ab）を算出し，得られた結果は一元配置分散分析後，Tukey-Kramer 検定により多重比較を行った（各群 n=3，$p < 0.01$）。

【結果および考察】

各材料の着色溶液浸漬前後における色差(ΔE*ab)を Fig.1 に示した。分子内に水素結合性官能基を持たない Bis-MEPP をモノマー主成分とする試作品 GCR-01 は，分子内にウレタン結合を有する UDMA を含む製品 A および水酸基を有する Bis-GMA を含む製品 B と比較して，ΔE*ab が有意に低かった。この結果から，水素結合性モノマーを含まず，非水素結合性モノマーを主成分とする試作品 GCR-01 は，コーヒーに対して優れた耐着色性を有することが示唆された。

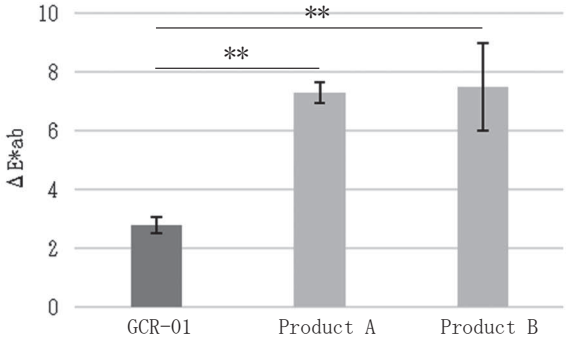


Fig.1　Color difference（ΔE*ab）after 1 week of immersion in 2% coffee solution（**:$p < 0.01$）.

【結論】

試作品 GCR-01 は，非水素結合性モノマーを主成分とする UCR であり，コーヒーに対する優れた耐着色を示し，口腔内における審美性の維持に有用であることが示唆された。

長期間海水浸漬による歯科用コンポジットレジンの色調変化

[1]奥羽大学 大学院歯学研究科咬合機能修復学，[2]奥羽大学成長発育学講座歯科矯正学分野，[3]広島大学大学院医系科学研究科法医学研究室，[4]奥羽大学 歯学部 歯科保存学講座保存修復学分野，[5]奥羽大学歯学部歯科補綴学講座冠橋義歯学
○長尾 崇史[1, 3]，住谷 雅[2]，長尾 正崇[3]，川鍋 仁[2]，山田 嘉重[4]，羽鳥 弘毅[1, 5]

Color Change of Dental Composite Resins After Long-term Immersion in Seawater

[1]Department of Crown-Bridge Prosthodontics, Graduate School of Dentistry,[2]Division of Orthodontics and Dentofacial Orthodontics, Department of Oral Growth and Development, School of Dentistry, University, [3]Department of Forensic Medicine, Graduate School of Biomedical and Health Sciences, Hiroshima University, [4]Division Operative Dentistry, Department of Conservative Dentistry, Ohu University School of Dentistry, [5]Department of Prosthetic Dentistry, Ohu University School of Dentistry
○Takafumi Nagao[1,3], Masashi Sumitani[2], Masataka Nagao[3], Hitoshi Kawanabe[2], Yoshishige Yamada[4], Kouki Hatori[1,5]

研究目的

2011 年 3 月 11 日に発生した東日本大震災は，死者 19,775 人，行方不明者 2550 人，被害総額 16 兆 9 千億円にのぼる甚大な被害をもたらした．2012 年度の警察白書より東日本大震災における死因の 90%が溺死であった。過去の経験から水中死体の司法解剖にて溺死と診断された検体の口腔内に歯冠修復処置などが実施されていることが多く、死体現象から大凡 1 か月ほど経過したと思われるケースがほとんどであった．しかし、多くのケースで長期間水中に晒された状態にもかかわらず，口腔内の歯冠修復処置の脱離はみられなかった．そこで本研究では，口腔内への処置後の歯冠修復材料の色調変化が水中滞留期間を類推するスクリーニング法としての有用性を検証することを目的とした．

材料および方法

牛歯（下顎第一切歯（永久歯）・横浜食肉公社より購入）（30 本）を次亜塩素酸ナトリウムにて歯肉を溶解し、残存する歯肉片と歯根膜を除去した。軟組織を除去した牛歯（25 本）の唇側歯面に直径 2 ㎜の範囲で丸状の設計線を記入した．窩洞の深さはダイヤモンドポイント FG340 の作業部長（1.6ｍｍ）までとした。窩洞形成したのちボンディング処置を行い，その後異なるメーカー5 社で販売されている光重合型コンポジットレジン（以下光 CR）をそれぞれの窩洞に充填した。充填後 SF102R で形態修正し、ホワイトポイントで研磨した。コントロールには無処置の牛歯（５本）を設定した。充填した牛歯とコントロールを瞬間接着剤(セメダイン SUPERX HYPER)にて鉢底ネットに固定し，ステンレスの籠に結束バンドで固定し岩国港（山口県）の海水中に３か月間浸漬した。まず浸漬前後の光 CR 充填部を肉眼で観察した。次に光 CR 充填部をデジタルカメラにて撮影した画像を精密色彩測定アプリ(スポイトカラー(Ver.1.2.0.0)）)を使用し、光 CR 充填部の RGB 値を計測した。

成績

それぞれ充填した光 CR は若干の色素沈着はみられるものの著しい色調変化は認められなかった。一方で，RGB 値の減少が確認された。

考察

近年、歯科治療時に使用される歯科材料は目覚ましい進歩を歩んでいる。齲蝕処置後の修復処置に使用される CR に添加されたハイブリッドフィラーにより従来の光 CR に比べ耐摩耗性・重合収縮の減少・審美性の向上に優れてきている。そのため，フィラーの含有増加により海水の吸水が減少したことでそれぞれの光 CR の色調変化が少なかった要因と推測される。長期間海水中に浸漬された光 CR の色調変化は肉眼的な評価だけでなく、RGB 測定により簡便にかつ微細な色調変化を客観的に捉えられることが示唆された。

結論

販売される光 CR は海水中といった特殊な環境下においても吸水による色調変化は認められるが，変化の度合いは，各社光 CR 間では大きな差はみられなかった。本研究は法医・法歯学分野における死体の水中滞留期間の推測の補助として応用できる可能性が示唆された。しかし，不確定な要素が多いことも考えられ，さらなる研究が必要である。

謝辞

本研究の遂行に多大なご協力を賜った第六管区海上保安本部ならびに岩国海上保安署に深く感謝申し上げます。

本研究にあたりＣＯＩ関係はありません

SS-OCT 画像を用いたホワイトスポットの定量評価に向けた減衰係数解析法の基礎的検討

[1]徳島大学理工学部医光/医工融合プログラム，[2]徳島大学ポスト LED フォトニクス研究所，
[3]徳島大学大学院医歯薬学研究部歯科保存学分野，[4]筑波大学 Computational Optics Group
○門脇奈央[1,2,3]，伊田百美香[3]，時実悠[2]，Shadil Basheer[4]，森下梨音[4]，安野嘉晃[4]，安井武史[2]，保坂啓一[2,3]

Evaluation of Attenuation Coefficient Analysis for Quantitative Assessment of White Spot Lesions Using SS-OCT Images

[1]Transdisciplinary Program for Medicine, Photonics, and Engineering, Faculty of Science and Technology, Tokushima University, [2]Institute of Post-LED Photonics, Tokushima University, [3]Department of Conservative Dentistry, Tokushima University Graduate School of Biomedical Sciences, [4] Computational Optics Group, University of Tsukuba
○Nao Kadowaki [1 2 3], Yumika Ida[3], Yu Tokizane[2], Shadil Basheer[4], Rion Morishita[4],Yoshiaki Yasuno[4], Takeshi Yasui[2], Keiichi Hosaka[2,3]

【緒言】近年、審美性への関心の高まりから、エナメル質表面に白濁として認められるホワイトスポット病変（white spot lesion：WSL）に対し、再石灰化療法、レジン浸潤法、マイクロアブレージョンなど複数の治療法が用いられている。適切な治療法選択には病変の深さや進行度を把握することが重要であり、これまで、波長掃引型光干渉断層計（swept-source optical coherence tomography：SS-OCT）を用いた WSLs の内部構造観察法が報告されているが、その定量評価法は十分に確立されていない。そこで、本研究では、SS-OCT 画像に減衰係数解析を適用し、WSLs の進行度および病変深さの定量的評価を目的とする。

【方法】本研究は、徳島大学倫理審査委員会の承認（承認番号：4611）を得て実施した。ヒト抜去歯のうち、歯冠部に境界明瞭または不明瞭な白濁を認め、肉眼的に実質欠損を認めない歯をう蝕性の WSL 試料として選定した。中心波長 1,310 nm 帯、深さ方向分解能 22.6 μm の自作 SS-OCT を用いて、ヒト抜去歯の三次元断層撮影を行った。

取得した断層データに以下の光学的解析手法を適用した。まず、SS-OCT 断層画像（B-scan 画像）上の光路長を、エナメル質の屈折率を用いて物理長、すなわち実際の深さに換算した。SS-OCT 撮影後、試料を切断し、実体顕微鏡を用いて切断面の明視野画像を取得した。得られた明視野画像を、対応する位置の B-scan 画像と比較した。

さらに、深さ方向の信号（A-scan 信号）の減衰特性を表す減衰係数を求めた。減衰特性がランベルト・ベール則に従うと仮定し、OCT 信号を回帰分析して減衰係数を算出した。WSL における脱灰に伴う微細構造変化は、OCT 信号の減衰特性に影響を及ぼす可能性がある。そこで、SS-OCT 画像と切断面明視野画像における WSL の位置および範囲の対応を検討するとともに、減衰係数が WSL の評価指標となり得るかを検討するため、WSL 部と健全部の減衰特性を比較した。

【結果・考察】SS-OCT B-scan 画像と歯の切断画像を比較した結果、WSLs に相当する領域の位置および範囲は概ね一致した（Fig.1,2）。ここでは、切断画像における歯表面付近の白色領域を WSL 部とみなした。また、健全部ではエナメル質と象牙質の境界が、SS-OCT 画像と切断画像で同一の深さに観察された。WSL 部では、OCT 信号強度の深さ方向の境界が不明瞭であるのに対し、切断画像では明瞭に観察された。そこで、WSL 部と健全部の OCT 信号強度を比較したところ、深さ方向の減衰特性に明確な違いが認められた（Fig.3）。WSL では表層から急激な信号低下が認められた。一方、健全部では信号強度が比較的緩やかに減衰した。WSL 部では、脱灰に伴う微細構造変化によって光散乱が増加し、健全部とは異なる SS-OCT 信号の減衰特性を示すと考えられる。このことから、減衰係数を WSL の光学的性状を定量化する指標として用いた。代表的な一試料において回帰直線の傾きから得られた減衰係数は、WSL 部と健全部でそれぞれ 4.18 mm-1 と 1.68 mm-1 であった。WSL と健全部で減衰係数が異なることから、SS-OCT 断層画像および減衰係数解析が WSL の定量評価法として有用である可能性が示唆された。

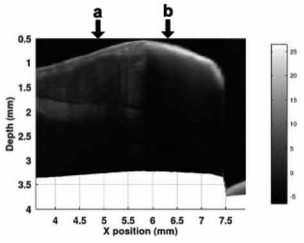
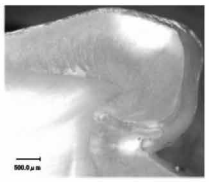


Figure1: OCT B-scan image


Figure2: Photomicrograph of a tooth

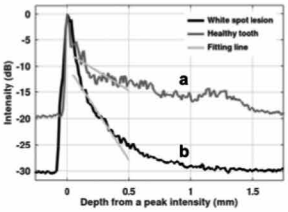


Figure3: OCT A-scan intensity

【結論】SS-OCT の断層画像および減衰係数解析は、WSLs の病変範囲および光学的性状の定量評価手法として有用である可能性が示唆された。今後、減衰係数と病変深さおよび各治療法の適応との関係を検証することで、治療法選択への応用が期待される。

Cu^{2+}担持ペルオキソ修飾チタン酸ナノチューブにおける可視光反応プロセスと生成ラジカル評価

[1)]大阪大学産業科学研究所先端ハード材料研究分野，[2)]大阪歯科大学歯科保存学講座
○西田尚敬[1,2)]，保尾謙三[2)]，岩田有弘[2)]，山本一世[2)]

Analysis of Photoreaction Process and Evaluation of Generated Radicals of Cu(II)/Peroxo-Titanate Nanotubes

[1)] SANKEN, Osaka University
[2)] Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University
Hisataka Nishida[1,2)], Kenzo Yasuo[2)], Naohiro Iwata[2)], Kazuyo Yamamoto[2)]

【緒言】

チタン酸ナトリウム（$Na_xH_{2-x}Ti_2O_5$）などの層状チタン酸材料は、ナノチューブ構造に由来した高い批評面積や、優れたイオン交換能を有することから光触媒材料として広く研究されてきた。その中でも、表面にペルオキソ基を導入したチタン酸ナノチューブ（PTNT）は可視光領域での活性を示し、有機汚染物質の分解において注目されている。オフィスホワイトニングは，可視光照射によるH_2O_2分解時に生成されるヒドロキシラジカル（･OH）が有機着色物質を分解することで漂白作用が発現する。そこで、過酸化水素（H_2O_2）と同じ電子配置を有する PTNT に修飾されているペルオキソ構造（-O-O-）を可視光で分解することによる･OH 生成、およびCu^{2+}における多電子還元による･OH 生成を期待し，H_2O_2 を使用しない新規漂白プロセスの開拓を目的として、本研究では、Cu^{2+}担持ペルオキソ修飾チタン酸ナノチューブ（Cu^{2+}-PTNT）における可視光照射時の光触媒特性評価、電子スピン共鳴法（ESR）を用いた反応メカニズム解析とスピントラップ法による生成ラジカル測定をおこなった。

【方法】

ペルオキソチタン錯体イオンを前駆体として用いたボトムアッププロセスにより PTNT を合成した[1)]。さらに 10 μM $Cu(NO_3)_2$ 水溶液に PTNT を混合し、Na^+とCu^{2+}とのイオン交換反応による表面と層間へのインターカレーション吸着をおこなった。作製した Cu^{2+}-PTNT による光触媒特性は、ローダミン B（RhB）を用いた可視光応射下での分解試験により評価した。また、ESR を用いて可視光照射時の反応メカニズムを解析した。測定は、酸素存在下、真空下、2-プロパノール存在下でおこない、Cu^{2+}の状態とトラップされた電子と正孔を評価することにより反応メカニズムを解析した。また、ヒドロキシラジカル（･OH）及びスーパーオキサイド（$O_2^{\cdot -}$）の測定にはスピントラップ法を用いた。トラップ剤には CYPMPO を使用し、５分間光照射をおこなった後にサンプリングして測定をおこなった。

【結果および考察】

可視光照射による RhB 退色試験では、Cu^{2+}添加により分解速度が大幅に促進された。また，ラジカルトラップ剤を添加した RhB 退色試験の結果から、･OH が RhB の分解に大きく寄与していることが確認された。ESR 測定におけるスペクトルの結果から、常磁性である Cu^{2+}イオンが UV 照射によるバンドギャップ励起と可視光による界面電荷移動（IFCT）の両方において伝導帯電子により反磁性を示すCu^+に還元されていることが明らかとなった。2-プロパノール存在下では紫外光照射時のみトラップされた電子のスペクトルが確認でき、可視光では電子が伝導帯まで達しないことを示した。空気存在下ではCu^{2+}のスペクトルの減少量が少なく、還元されたCu^+がO_2を還元して再びCu^{2+}に戻ることが考えられる。スピントラップ法を用いた･OH 及び$O_2^{\cdot -}$の ESR 測定では、Cu^{2+}-PTNT への可視光照射により$O_2^{\cdot -}$よりも酸化力が高い･OH が優位に検出された。

【結論】

本材料は，可視光照射により効率的な電荷移動が起こり，有機物分解に大きく関与する･OH を多量に生成することが明らかとなった。高機能可視光応答光触媒材料として期待でき、新規漂白プロセス構築への可能性が示された。

【参考文献】

1) Park H et al. Enhancing visible light adsorption of yellow-colored peroxo-titanate nanotubes prepared using peroxo titanium complex ions. *ACS Omega* 2020; 5(34): 21753-21761.

2021~2025 年度の歯学部 5 年生保存系スキルスラボ実習を担当して －窩洞形成に関する「外形」と「深さ」の習熟度の独立性と学生のタイプ別分析－

神奈川歯科大学歯科保存学講座保存修復学分野
○椎谷　亨，武村幸彦，乙幡勇介，富山　潔，向井義晴

Analysis of 5th-Year Dental Students in Conservative Dentistry Skills Lab (FY2021–2025) -Independence of 'Outline Form' and 'Depth' Mastery and Student Typology-

Department of Restorative Dentistry, Kanagawa Dental University
○SHIIYA Toru, TAKEMURA Yukihiko, OPPATA Yusuke, TOMIYAMA Kiyoshi, MUKAI Yoshiharu

【研究目的】

歯学部 5 年生臨床実習学生は，保存系スキルスラボ実習において 2 級スライス式メタルインレー窩洞形成（右上第 1 大臼歯の MO 窩洞）を行っている．分析には，非接触型高速三次元形状計測システム（VMS-10XR 型，株式会社ユニスン製）を用いており，窩洞形成技能評価において有用な方法であることを報告している（第 162～164 回日本歯科保存学会学術大会）．のべ 5 年間のデータが得られ，窩洞形成における外形や深さの習熟度に関する内容や臨床実習学生の窩洞形成能力に関するタイプにおいて分析を行ったので報告する．

【方　法】

保存系スキルスラボ実習は，学生にとっては歯学部 3 年生時以来の当該部窩洞形成であり，人工歯 2 本の窩洞形成を行っている．1 本目は指導医の介入あり，2 本目は自力で窩洞形成を完了し，その 2 本目を本システムで採点している．今回は 2021～2025 年度の 5 年間における，計 517 名の窩洞形成人工歯の採点結果から，「外形スコア」「深さスコア」を分析対象とした．外形スコアと深さスコアの相関関係を解析するとともに，それら項目の平均値を基準として学生を以下の 4 タイプに分類し，5 年間の推移を比較検討した（神奈川歯科大学研究倫理審査委員会承認（第 1085 番））．

Group 1：両優秀型（外形・深さともに平均点以上）
Group 2：深さ先行型（深さのみ平均点以上、外形は平均点未満）
Group 3：外形優先型（外形のみ平均点以上、深さ平均点未満）
Group 4：両苦手型（外形・深さともに平均点未満）．

【結　果】

5 年間の全 517 件のデータにおける「外形スコア」と「深さスコア」の平均値を“基準線（閾値）”として設定し，2 軸の座標（散布図の 4 象限）に当てはめることで分類を行った．すなわち，この 2 つの平均値を境界線として，学生 1 人ひとりの点数が「平均値以上か／平均値未満か」にて 4 つの領域（象限）に振り分けた．分類の基準値（5 年間の平均値）は外形スコアが 67.8 点，深さスコアが 77.0 点であった．外形スコアの平均値の方が，深さスコアのそれより有意に低かった．

外形スコアと深さスコアの Spearman の順位相関係数は $\rho = 0.1414$ ($p = 0.0013$) であり、両者はほとんど相関が無かった．

4 つのタイプの該当人数と全体に占める割合は，Group 1：157 名（30.4%），Group 2：153 名（29.6%），Group 3：95 名（18.4%），Group 4：112 名（21.7%）であった．

また，歯学部 5 年生の推移として、Group 4「両苦手型」の割合は、2021 年度の 32.3%から 2025 年度には 13.3%へと大幅に減少していることが明らかとなった．

【考　察】

「外形スコア」と「深さスコア」の相関係数の結果より，両者にはほとんど相関を認めず，習得スキルとして独立していることが示された．さらに，4 タイプ分類では、Group 2「深さ先行型（外形が苦手）」が全体の約 30%を占め、深さもさることながら，外形線の形成が学生の内側性窩洞形成スキルにおいて主たるネックになっていることが確認された．学生を 4 タイプに分類して苦手要素を特定し，タイプに応じた適切なフィードバックを行うことが効果的な実習指導に繋がることが示唆された．

VR シミュレータ（Simodont®）と従来型模型実習におけるう蝕除去時の認知負荷の比較

朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野歯冠修復学
○石榑　大嗣，内野　仁，日下部修介，奥山　克史

Comparison of Cognitive Workload Between a Virtual Reality Simulator (Simodont®) and a Conventional Simulation Environment During Caries Removal Training

Department of Operative Dentistry, Division of Oral Functional Science and Rehabilitation, Asahi University School of Dentistry
○ISHIGURE Hiroshi, UCHINO Hitoshi, KUSAKABE Shusuke, OKUYAMA Katsushi

【緒言】

近年，歯科教育において Virtual Reality（VR）シミュレータの活用が進みつつあり，歯冠切削訓練やう蝕除去訓練への応用が報告されている．VR シミュレータは繰り返し練習が可能であり，客観的な評価指標を提供できるなどの利点を有する．一方，従来型模型実習環境は実際の器材や材料を用いて学習できることから，現在も歯科臨床技能教育の中心的役割を担っている．技能習得においては作業成績だけでなく，認知負荷の評価も重要である．しかし，う蝕除去訓練において VR シミュレータと従来型模型実習環境の認知負荷を比較した報告はない．そこで本研究では，VR シミュレータおよび従来型模型実習環境におけるう蝕除去課題実施時の認知負荷を NASA Task Load Index（NASA-TLX）を用いて評価し，両学習環境の特徴を明らかにすることを目的とした．

【対象と方法】

対象は朝日大学歯学部第 5 学年学生 20 名とした．従来型模型実習ではファントム（クリンシム®，株式会社モリタ）に装着した顎模型に下顎左側第一大臼歯う蝕歯（A26AN-36W 株式会社ニッシン）を装着して対象とし，VR シミュレータ実習では「Simodont®（株式会社ニッシン）」の下顎右側第一大臼歯のプログラムを対象とした．いずれも近心隣接面および咬合面にう蝕を有したモデルである．被験者を従来型模型実習先行群と VR シミュレータ先行群に分け，クロスオーバーデザインで高速回転切削器具を用いたう蝕除去実習を行った．制限時間は各 10 分間とし，隣在歯を切削しないよう指示した．各実習終了後，学生自身に Raw NASA Task Load Index（Raw NASA-TLX）を用いて認知負荷を評価させた．Raw NASA-TLX は Mental Demand，Physical Demand，Temporal Demand，Performance，Effort および Frustration を 0〜10 点の評価とし，6 項目の平均値を算出した．統計解析には Python 3.11 を用い，pandas 2.2.2，SciPy 1.14.1 および statsmodels 0.14.2 を使用した．正規性は Shapiro-Wilk 検定で確認し，各項目の比較には対応のある t 検定または Wilcoxon 符号付順位検定を用いた．有意水準は 5%とした．本研究は，朝日大学歯学部研究倫理審査委員会の承認を受けて実施した（承認番号：37028）．

【結果】

Raw NASA-TLX は VR シミュレータ実習で 3.75±1.50，従来型模型実習で 3.69±1.63 であり，両学習環境間に有意差は認められなかった（p=0.209）．下位尺度別である，Mental Demand，Physical Demand，Temporal Demand，Performance 反転値，Effort および Frustration のいずれにも有意差は認められなかった．また，実習順序による Raw NASA-TLX への影響も認められなかった（p=0.340）．

【考察】

本研究では，VR シミュレータと従来型模型実習環境との間で認知負荷に有意差は認められなかった．このことから，VR シミュレータは従来型模型実習と同程度の認知負荷でう蝕除去訓練を実施できることが示され，VR シミュレータは学習者に過度な認知負担を与えることなく，導入可能な教育ツールとなる可能性が示唆された．一方，認知負荷は実習経験や VR 機器への習熟度など複数の要因の影響を受ける可能性がある．今後は形成精度や作業時間，学習到達度などの客観的指標と併せて評価し，VR シミュレータの教育的有用性を包括的に検討する必要がある．

【結論】

・VR シミュレータ「Simodont®」と従来型模型実習環境との間で，認知負荷に有意差は認められなかった．
・「Simodont®」は従来型模型実習環境と同程度の認知負荷でう蝕除去訓練を実施できることが示唆され，歯科教育への活用が期待される．

消化器がん患者における口腔疾患の関連 ― DMF 歯数に着目した包括的評価 ―

北海道大学 北海道大学病院 むし歯科 [1)]，北海道大学 大学院歯学研究院 歯科保存学教室 [2)]
北海道大学 大学院歯学院 歯科保存学教室 [3)]，北海道大学 大学院医学研究院 消化器内科学教室 [4)]
川本千春 [1)]，兼子裕史 [2)]，矢後亮太朗 [1)]，中村勇登 [3)]，長川直樹 [3)]，星加修平 [1)]，坂本直哉 [4)]，友清淳 [2)]

Oral Disease Burden in Patients with Gastrointestinal Cancer: A Comprehensive Assessment Focusing on DMFT

Department of Operative Dentistry, Hokkaido University Hospital, Hokkaido University[1)],
Department of Restorative Dentistry, Faculty of Dental Medicine, Hokkaido University[2)],
Department of Restorative Dentistry, Graduate School of Dental Medicine, Hokkaido University[3)],
Department of Gastroenterology and Hepatology, Faculty of Medicine, Hokkaido University[4)],
KAWAMOTO chiharu[1)], KANEKO Hirofumi[2)], YAGO Ryotaro[1)], NAKAMURA Yuto[3)], NAGAKAWA Naoki[3)], HOSHIKA Shuhei[1)], SAKAMOTO Naoya[4)], TOMOKIYO Atsushi[2)]

【目的】

近年，口腔内環境と消化器がんとの関連が注目され，特に歯周病と消化器がんとの関連について多くの研究が報告されている。一方，口腔疾患には歯周病だけでなく，う蝕や根尖性歯周炎なども含まれるが，これらを含めた包括的な口腔疾患の実態については十分な検討がなされていない。また，DMF 歯数は現在および過去のう蝕，喪失歯，処置歯を含む生涯にわたるう蝕経験を反映する代表的な疫学指標であるが，消化器がん患者における特徴は明らかではない。本研究では，消化器がん患者の DMF 歯数，歯周病および根尖性歯周炎を包括的に評価し，歯科疾患実態調査との比較を行うことで，消化器がん患者における口腔疾患の特徴を明らかにすることを目的とした。

【方法】

本研究は北海道大学病院生命科学・医学研究倫理審査委員会の承認（承認番号：021-0216）のもと実施した。2015 年 4 月から 2025 年 3 月までに北海道大学病院で周術期口腔管理を受けた消化器がん患者 1,529 例のうち，選択基準を満たした 218 例を対象とした後ろ向き研究を実施した。初診時の診療録およびパノラマエックス線写真を用いて，DMF 歯数，4 mm 以上および 6 mm 以上の歯周ポケット保有率，ならびに根尖性歯周炎（Periapical Index：PAI≧3）の有病率および病変数を評価した。DMF 歯数は Welch の t 検定，歯周ポケット保有率は χ^2 検定または Fisher の正確確率検定を用いて，2022 年歯科疾患実態調査の年齢層別データと比較した。根尖性歯周炎については比較可能な全国データが存在しないため，有病率および患者当たり病変数を算出し，記述的に評価した。

【結果】

D DMF 歯数は 25 歳以上のすべての年齢層において，全国平均と比較して有意に高値を示した（すべて $p<0.05$）。4 mm 以上の歯周ポケット保有率は 55～64 歳，65～74 歳および 75 歳以上で，6 mm 以上の歯周ポケット保有率は 45 歳以上の各年齢層で全国平均より有意に高値を示した。さらに，根尖性歯周炎は対象患者全体の 46.3%に認められ，45～54 歳および 65～74 歳では有病率が 50%を超えた。また，これらの年齢層では患者当たり平均 1 病変以上の根尖病変を認めた。以上より，消化器がん患者では全国平均と比較して高い DMF 歯数および歯周病指標を示すとともに，根尖性歯周炎も高頻度に認められ，複数の口腔疾患が集積していることが示された。

【結論】

消化器がん患者では，全国歯科疾患実態調査と比較して DMF 歯数および歯周病指標が高値を示し，さらに約半数の患者に根尖性歯周炎が認められた。本研究の結果から，消化器がん患者では歯周病のみならず，う蝕経験および根尖性歯周炎を含む複数の口腔疾患が集積している可能性が示された。これまで歯周病を中心に議論されてきた口腔と消化管との関連を検討する上で，生涯のう蝕経験を反映する DMF 歯数を含めた包括的な口腔疾患評価が重要である可能性が示唆された。

FDI 評価基準に準じた CAD/CAM インレーの臨床成績

昭和医科大学歯学部歯科保存学講座保存修復学部門
○林遥佳，新妻由衣子，菅井琳太朗，長谷川正剛，水野有梨，利井伸光，渡邉仁美，
難波明来，中崎由奈，奥野司，原田優，川合麻莉奈，小林幹宏

Clinical Performance of CAD/CAM Inlays according to the FDI Criteria

Department of Conservative Dentistry, Division of Operative Dentistry,
Showa Medical University School of Dentistry
○HAYASHI Haruka, NIIZUMA Yuiko, SUGAI Rintaro, HASEGAWA Masataka, MIZUNO Yuri,
TOSHII Nobuhiko, WATANABE Hitomi, NAMBA Megu, NAKAZAKI Yuna, OKUNO Tsukasa,
HARADA Yu, KAWAI Marina, KOBAYASHI Mikihiro

【目的】

CAD/CAM インレーは 2022 年 4 月に保険収載され、現在では臼歯部間接修復における一般的な治療選択肢として広く用いられている。しかし、CAD/CAM インレーの臨床成績に関する報告は限られている。そこで本研究では、装着後 1 年以上経過した CAD/CAM インレーを対象として、改訂 FDI 評価基準[1)]を用いて臨床成績を評価することを目的とした。

【材料と方法】

2023 年 4 月から 2025 年 7 月までに昭和医科大学歯科病院保存修復科において CAD/CAM インレーが装着された患者を診療録から抽出し、装着日および治療部位に関する情報を収集した。このうち、装着後 1 年以上経過し、定期的に通院している患者を対象として、リコール時に評価を行った。

観察評価には改訂 FDI 評価基準を用い、機能学的 5 項目、生物学的 5 項目および審美学的 3 項目の計 13 項目を、Score1 から Score5 までの 5 段階で判定した。評価は保存修復学を専門とする歯科医師 2 名のうち、いずれか 1 名が実施し、併せて口腔内写真を撮影した。本研究は昭和医科大学における人を対象とする研究等に関する倫理委員会の承認を得て実施した。(承認番号:2025-0442)

【結果と考察】

装着後 1 年以上経過し、継続して通院していた 54 修復物をリコール時の評価対象とした。観察期間は 1 年から 3 年 6 か月であった。対象 54 修復物のうち、1 修復物は破折により再修復されていたため、改訂 FDI 評価基準による評価対象は 53 歯であった。修復物の残存率は 98.1％であった。

全体として、機能学的、生物学的および審美学的評価では、Score1 が多く認められた。機能学的評価では、F2(辺縁適合)および F5(咬耗･摩耗)では Score2 に該当するわずかな辺縁段差や軽度の咬耗が見られた修復物がそれぞれ 73.6%、69.8％であった。生物学的項目では、大部分の項目で Score1 を認めたが、B5(歯周組織反応)では Score2 の軽度の歯周炎症がみられる症例が多く認められた。審美学的項目では、A1(表面光沢・滑沢)で Score1 と Score2 がほぼ同数で、Score2 の表面の軽度の粗造化が 43.4％認められた。A2(辺縁着色)では Score2 に該当する、研磨により除去可能な軽度の着色が 58.5％であった。

全評価項目を通して Score4 は F1(材料の破折・保持)、F5、A2 が 1 歯に認められ、F1 および A2 はそれぞれ 1 歯ずつに見られ、合計 3 歯であった。

【結論】

CAD/CAM インレーは装着後 1 年から 3 年 6 か月において機能学的、生物学的および審美学的に概ね良好な臨床成績を示した。一方で、辺縁適合、咬耗・摩耗、歯周組織反応、表面光沢・滑沢および辺縁着色については、臨床的に許容可能な軽度の変化が示された。

【参考文献】

1) Hickel R, Mesinger S, Opdam N, Loomans B, Frankenberger R, Cadenaro M, et al. Revised FDI criteria for evaluating direct and indirect dental restorations –recommendations for its clinical use, interpretation, and reporting. Clin Oral Investig. 2023;27(6):2573-2592.

機能性修復材料を用いた低侵襲齲蝕治療の一症例

[1]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、
[2]大森歯科医院、[3]医療法人社団こころ会、[4]オムニデンティックス
大石　真太郎[1,2]　、佐藤　将洋[1,3]、藤井　健男[1,4]
泉川　昌宣[1]、斎藤　隆史[1]

A Case Report of Minimally Invasive Caries Management Using a Novel Functional Restorative Material

[1] Division of Clinical Cariology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido,
[2] Omori Dental Clinic, [3] Medical Corporation Kokorokai, [4] OMNIDENTIX
Shintaro OISHI[1,2], Masahiro SATO[1,3], Takeo FUJII[1,4], Masanobu IZUMIKAWA[1] and Takashi SAITO[1]

【緒言】

歯髄の保存は歯の長期的な機能維持に重要であり、低侵襲な齲蝕治療を実践することで、Repeated Restoration Cycle を抑制し、歯の長期保存につなげることが求められる。近年、機能性接着性材料の開発により、歯髄保護を考慮した修復治療が可能となってきた。これまでに我々は、CMET 含有接着性材料が、高い接着性能に加え、再石灰化誘導作用、抗脱灰作用、抗バイオフィルム形成作用および象牙芽細胞分化誘導作用を有することを示してきた（特許第 4969800 号、特許第 7525505 号）。そこで本症例では、CMET 含有機能性修復材料を用い、う蝕治療ガイドライン第 2 版（2015 年）および歯髄保護の診療ガイドライン（2024 年）に準拠した低侵襲齲蝕治療を行い、その臨床経過について報告する。

【材料および方法】

本研究は本学歯学倫理審査委員会の承認（第 225 号）を得て実施した。Bioactive Monomer™ CMET 配合バルクベース®ハードⅡ（サンメディカル）を機能性修復材料として用いた。う蝕治療ガイドライン第 2 版（CQ6、CQ7、CQ8、CQ14、CQ15、CQ16）および歯髄保護の診療ガイドライン（CQ1、CQ3、CQ4）を踏まえて治療を行った。処置はマイクロスコープ（Leica M320-D）下で実施し、術後は CBCT を含めた経過観察を行った。

【症例】

40 歳の女性。＃35 の修復物脱離および一過性の冷水痛を主訴に来院した。自発痛や打診痛は認めなかったが、エックス線検査で比較的歯髄に近接した象牙質齲蝕を認めた。ラバーダム防湿およびマイクロスコープ下で修復物を除去後、齲蝕検知液（カリエスチェック、NISHIKA）による染色性を指標として感染象牙質を鋭利なスプーンエキスカベーターで除去し、低速回転スチールラウンドバーで最終調整を行った。硬く白色の削片を確認し、齲蝕の完全除去を確認後、ノンベベル窩縁で窩洞形成を完了した。バルクベース®ハードⅡは修復材としても使用できるベース材であることから、バルクベースライナー®Ⅱで歯面処理を行い、バルクベース®ハードⅡミディアムフローを一括填塞・光照射後、形態修正および研磨を行った。術後 6 か月間経過観察を実施した。

【結果】

修復直後、3 か月後および 6 か月後のいずれの時点でも、冷水痛や打診痛などの自覚・他覚症状は認められなかった。視診では修復物の着色や辺縁不適合は認められず、エックス線検査でも異常所見は認められなかった。さらに CBCT では、修復物直下の象牙質に石灰化様変化が観察された。

【考察】

本症例では、う蝕治療ガイドラインおよび歯髄保護の診療ガイドラインに準拠して象牙質齲蝕を除去した後、CMET 含有機能性修復材料を用いて修復を行った。バルクベースライナー®Ⅱの Booster Brush には Bioactive Monomer™ CMET が配合されており、これまでの in vitro および in vivo 研究において、石灰化誘導作用、抗脱灰作用、抗菌作用ならびに修復象牙質形成誘導作用が報告されている。また、High-PA Monomer™による高い接着性と、LPS モノマーによる低重合収縮性を併せ持つことも特徴である。本症例では術後 6 か月間にわたり良好な臨床経過を示し、CBCT では修復物直下に石灰化様変化が認められたことから、本材料は歯髄保護を考慮した低侵襲齲蝕治療に有用であることが示唆された。今後は症例数の蓄積および長期経過観察により、その有効性をさらに検証する予定である。

BG配合マグネシアセメントの開発とラット象牙芽細胞様細胞に対する細胞適合性の評価

九州歯科大学口腔機能学講座口腔保存治療学分野
○村田一将，御手洗直幸，北村知昭

Development and Cytocompatibility Assessment of Bioactive Glass-Containing Magnesium Oxide-Based Cement

Division of Endodontics and Restorative Dentistry,
Department of Oral Functions, Kyushu Dental University
○MURATA Kazumasa, MITARAI Naoyuki, and KITAMURA Chiaki

【目的】

象牙質・歯髄複合体および根尖周囲組織の再生誘導に特化した生体材料の開発を目的として，我々は生体活性セラミックスであるBioactive Glass(BG)を配合した生体材料に関する研究を進めている．近年，様々な元素の生物学的機能が次々と明らかになってきている．その中でもマグネシウムイオンは，骨芽細胞の分化促進や血管新生を介して硬組織形成に寄与することが報告されており，さらに歯髄幹細胞の増殖を促進し，アルカリホスファターゼ（ALP）活性を高めるとともに，象牙質シアロリンタンパク質（DSPP）および象牙質マトリックスタンパク質１（DMP-1）の発現を増加させることが報告されており，歯髄幹細胞の象牙芽細胞様細胞への分化を促進することが示唆されている．本研究では，成分組成を調整することで、硬さの異なる３種類のBG配合マグネシアセメント（MC-1，MC-2，MC-3）を作製し，試作したBG配合マグネシアセメントと既存の覆髄材であるニシカキャナルシーラーBG multi（BGM）とProRoot MTA（MTA）を用いて，ラット象牙芽細胞様細胞の増殖および分化に及ぼす影響について比較検証した．

【材料と方法】

＜セメント＞トランズウェルインサートに50 μL填入し，24時間インキュベーター内で硬化させた各種セメントを細胞増殖および細胞分化に対する影響の評価では使用した．**＜細胞増殖能に対する影響の評価＞** ラット象牙芽細胞様細胞（KN-3細胞）を播種から24時間後にトランズウェルシステムを用いて各種セメント溶出物による刺激を開始し，1，3，5日目にCCK-8アッセイを行うことで細胞増殖能に対する影響を評価した．**＜ALP染色＞**播種から24時間後に刺激を開始し，3，5日目にALP染色を行うことで細胞分化能に対する影響を評価した．

【結果】

＜細胞増殖能に対する影響＞ CCK-8アッセイの結果,培養３日目においてMTAがMC-2と比較して有意に細胞数が減少したが，実験期間を通していずれの群においてもコントロール群との間に有意な差は認められなかった．**＜ALP染色＞** ALP染色による細胞分化評価では，いずれの群においてもコントロール群との間に有意な差は認められなかった．

【考察】

本研究で，試作した３種類のマグネシアセメントは既存の覆髄材と同程度の細胞適合性を有していることが示された．しかしながら，本実験では硬化後のセメント試料を用いており，実際の臨床条件とは異なるため，今後，硬化前のセメントを用いて，細胞適合性や生体適合性の検証を行っていく予定としている．

【結論】

試作したBG配合マグネシアセメントは，既存の覆髄材と同程度の細胞適合性を示し，新規覆髄材としての応用可能性が示唆された．

in vivo におけるラット根尖性歯周炎および in vitro におけるリポ多糖で刺激したヒト歯根膜線維芽細胞に対する Resolvin E1 および Maresin 1 の影響

東京歯科大学 歯内療法学講座
○倉持 仁，岩澤 弘樹，番場 桃子，田宮 資己，佐古 亮，藤井 理絵，
宮吉 教仁，堀内 章，山村 啓介，古澤 成博，山田 雅司

Effects of Resolvin E1 and Maresin 1 on rat periapical periodontitis in vivo and on Lipopolysaccharide-stimulated human periodontal ligament fibroblasts in vitro

Department of Endodontics, Tokyo Dental College
○Jin Kuramochi, Hiroki Iwasawa, Momoko Bamba, Yoshiki Tamiya, Ryo Sako, Rie Fujii, Norihito Miyayoshi, Akira Horiuchi, Keisuke Yamamura, Masahiro Furusawa, Masashi Yamada

［目　的］

根尖性歯周炎由来の過剰な炎症反応が生じた際、歯根膜線維芽細胞は根尖部周囲組織の炎症反応に密接に関与している。近年、エイコサペンタエン酸やドコサヘキサエン酸をはじめとする多価不飽和脂肪酸の代謝産物である脂質メディエーターが、好中球の遊走と炎症性サイトカイン産生の抑制等の炎症反応の消退を促す作用に関係していることが報告されている。その中でも Resolvin E1（RvE1）、Maresin 1（MaR1）は、ヒト歯根膜幹細胞の硬組織形成細胞への分化促進やラットの骨創傷治癒促進作用を有するとされているが、炎症環境下での RvE1 と MaR1 が歯根膜線維芽細胞に与える影響についての報告は少ない現状にある。そこで本研究では、RvE1、MaR1 がラット根尖性歯周炎における歯周組織に及ぼす影響、ならびにリポ多糖（LPS）で刺激した歯根膜線維芽細胞に対して与える影響について検討を行う。

［方　法］

in vivo では、根尖性歯周炎における根尖周囲組織に対する RvE1、MaR1 の抗炎症作用を検証するため、ラット下顎右側第一臼歯近心根を抜髄したのち、6 週間窩洞を開放し根尖性歯周炎を惹起させた後、50 nM の RvE1 もしくは 50 nM の MaR1、滅菌精製水を用いて根管治療を行った。1 週間後に下顎骨を摘出し、通法によりパラフィン切片を作製、H-E 染色および IL-1β に対しての免疫組織化学染色を行い観察した。本研究は東京歯科大学動物実験委員会（No. 240502）の指針に従って実施された。in vitro では、ヒト歯根膜線維芽細胞に対する RvE1、MaR1 の抗炎症作用および硬組織形成促進作用を検証するため、DMEM 培地に硬組織誘導成分を添加した硬組織形成誘導培地を用いて培養を行った。1 μg/mL の LPS を添加したものを LPS 群、LPS と 0.1 nM の RvE1 を添加したものを RvE1 群、LPS と 0.1 nM の MaR1 を添加したものを MaR1 群とした。また対照群は硬組織形成誘導培地のみで培養したものとした。評価は qRT-PCR とアルカリフォスファターゼ（ALP）assay、 Alizarin Red S 染色（ARS）にて行った。qRT-PCR は刺激から 12 時間後に炎症関連因子として IL-1β，IL-6 mRNA を標的とし、加えて 7 日後に硬組織関連因子として RANKL，OPG，RUNX2, の mRNA を標的とした。アルカリフォスファターゼ（ALP）assay は 14 日目に行い ALP 活性の指標とした。ARS は 28 日目に行い硬組織形成量の指標とした。

［結　果］

対照群と比較して RvE1 群、MaR1 群では、in vivo において免疫組織化学染色での IL-1β 陽性領域の減少を認めた。in vitro において qRT-PCR では炎症性サイトカインである IL-1β、IL-6 の mRNA 発現低下や骨吸収に関わる RANKL mRNA の発現低下と OPG mRNA の発現上昇や、硬組織形成に関わる RUNX2 mRNA の発現上昇がみられた。加えて ALP assay では硬組織形成細胞への分化の指標となる ALP 活性の有意な上昇、ARS では硬組織形成量の有意な亢進がみられた。

［考　察］

RvE1、MaR1 は、ラット根尖性歯周炎において炎症性サイトカインの産生を抑制するとともに、歯根膜線維芽細胞において炎症性サイトカインや骨吸収関連遺伝子の発現を抑制することから炎症抑制作用を有すると考えられた。さらに、硬組織形成関連遺伝子の発現や硬組織形成量を増加させることから、硬組織形成促進作用を有することが示唆され、今後は根尖性歯周炎で失われた硬組織を速やかに回復させるための治療薬として応用できる可能性が考えられた。

［結　論］

根尖性歯周炎において、RvE1 および MaR1 は炎症性サイトカインの産生を抑制し、硬組織形成を促進する。

ヒト歯髄培養細胞における BMP-9 の硬組織形成作用の検討

日本大学松戸歯学部　歯内療法学講座
○松井瑞季、神尾直人、岡部達、渡邊昂洋、深井譲滋、倉持光成、古谷夏子、中西建人

Effects of BMP-9 on Hard Tissue Formation in Human Dental Pulp Cells

Department of Endodontics , Nihon University School of Dentistry at Matsudo
MATSUI Mizuki, KAMIO Naoto , OKABE Tatsu, WATANABE Takahiro, FUKAI Joji,
KURAMOCHI Kosei , FURUYA Natsuko, and NAKANISHI Kento

【目的】

歯科臨床において、齲蝕や外傷により損傷した歯髄組織の生物学的機能を可能な限り温存することは極めて重要であり、歯髄の生活反応を維持しつつ歯髄組織における硬組織形成を誘導することは治療成績に大きく関与すると考えられている。Transforming Growth Factor-β（TGF-β）スーパーファミリーに属する Bone morphogenetic protein（BMP）の中で、BMP-9 は特に高い硬組織形成誘導能を有することが報告されており、歯科領域における再生療法への応用が期待されている。しかし、ヒト歯髄培養細胞における BMP-9 の作用についてはいくつか報告されているものの、その詳細には不明な点が多い。そこで本研究では歯髄における BMP-9 の作用を明らかにするため、ヒト歯髄培養細胞に BMP-９を添加し、アリザリン染色による石灰化評価、Real-Time PCR 法 と Western blot 法による Osterix（OSX）や Dentin Sialophosphoprotein（DSPP）発現量の比較、さらに Smad1/5/8 リン酸化に与える影響を比較検討した。

【材料および方法】

本研究は日本大学松戸歯学部倫理委員会の承認（承認番号：EC25-22-21-20-19-19-003-5）を得て行った。

1: ヒト歯髄培養細胞は, 本研究のインフォームドコンセントを十分に行い同意を得た患者の矯正学的理由で抜去された健全な第三大臼歯から無菌的に抽出した歯髄を 6〜8 代継代したものを用いた。

2: 無刺激もしくは各種濃度で BMP-9 刺激後、2 mmol/L β-glycerophosphate と 50 μg/mL アスコルビン酸を通常培地に添加した石灰化誘導培地にて培養した 21 日目のヒト歯髄培養細胞をアリザリンレッド溶液にて染色した。

3: Real-Time PCR 法は全 RNA, DNA primer, One step SYBR® Prime Script™ RT-RNA KIT II Perfect Real Time を用い Thermal Cycler Dice® Real Time System にて行った。

4: Western blot 法は、ヒト歯髄培養細胞を 10 ng/mL BMP-9 で刺激、タンパク質を回収し電気泳動後に PVDF 膜へ転写した。一次抗体として抗 phospho-Smad1/5/8 抗体および抗 DSPP 抗体を用い、各タンパク質の発現を解析した。

【結果】

アリザリンレッド染色の結果、10 ng/mL BMP-9 刺激群で最も高い石灰化結節形成の増加が認められた。以後の実験には 10 ng/mL を至適濃度として用いた。DSPP タンパク質発現は 7 日目および 14 日目において発現の増加が認められた。また、OSX は刺激 3 時間後より増加し始め、12 時間後に最大となった。さらに、Smad1/5/8 のリン酸化は BMP-9 刺激 30 分後より認められ、2 時間後に最大となった。

【考察】

本研究では、BMP-9 刺激により石灰化結節形成の増加に加え OSX および DSPP の発現増加が認められ、BMP-9 はヒト歯髄培養細胞の象牙芽細胞分化に関与する可能性が示唆された。また、BMP-9 刺激後 Smad1/5/8 のリン酸化が認められたことから、本シグナルが BMP-9 刺激に対する初期応答として機能し、その後の分化過程に関与していると予測された。以上より、BMP-9 はヒト歯髄培養細胞の象牙芽細胞分化を誘導する有用な因子となる可能性が期待され、今後は Smad1/5/8 より下流で機能する転写因子やその他のシグナル経路をより詳細に解明する必要がある。

酸化ストレス制御型異種由来歯髄幹細胞/アテロコラーゲン複合移植材の開発と歯髄再生への応用

[1] 新潟大学大学院　医歯保健学研究科口腔健康科学講座う蝕学分野
[2] 新潟大学大学院　医歯保健学研究科口腔生命福祉学講座口腔保健学分野
○髙原信太郎 [1]，大倉直人 [1]，Pemika Thongtade[1]，青木直美 [1]，
竹中彰治 [1]，吉羽永子 [2]，野杁由一郎 [1]

Development of a Xenogeneic Dental Pulp Stem Cell/Atelocollagen Composite Graft with Oxidative Stress-Modulating Function for Pulp Regeneration

[1]Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Department of Oral Health Science, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
[2]Division of Oral Science for Health Promotion, Department of Oral Health and Welfare, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
○Shintaro TAKAHARA [1], Naoto OHKURA [1], Pemika THONGTADE[1], Naomi AOKI[1], Shoji TAKENAKA [1], Nagako YOSHIBA [2], and Yuichiro NOIRI [1]

【目的】根管治療後の歯は，歯質欠損に加えて歯髄の生体防御・修復機能が失われるため，長期的な保存が困難となる場合がある．近年，歯髄の機能的回復を目指す再生歯内療法（Regenerative Endodontic Procedure：REP）が注目され，自家歯髄幹細胞（Dental Pulp Stem Cells：DPSCs）の移植による歯髄再生が可能であることが報告された．しかし，自家 DPSCs の採取・保存には制限があるため，安定した細胞供給源となり得る異種由来 DPSCs を用いた歯髄再生に着目し，その実現に向け新規細胞移植材の開発を試みた． 他方で，細胞移植部位で過剰に産生される活性酸素種（Reactive Oxygen Species：ROS）は，移植細胞の生存や機能を低下させ，組織再生を阻害するという報告がある．そこで，ROS 消去剤エダラボン（EDA）に着目し，ヒト DPSCs（hDPSCs）を基材であるアテロコラーゲン（Col）に懸濁した後，EDA を配合することで，酸化ストレス制御機能を付与した EDA 含有 hDPSC/Col 複合移植材を作製した．本研究では，本移植材をラット臼歯に適用し，歯髄再生における有用性と作用機序の一端を検索した．本研究は科研費（25K24062）の助成を受けて実施した．

【材料および方法】本研究は新潟大学動物実験倫理委員会の承認を得て実施した（承認番号：SA01435）．*In vitro* では，ROS 存在下で，EDA 添加または無添加の hDPSCs を 24 時間培養し，バルク RNA シーケンス解析によって遺伝子発現変化を網羅的に解析した．*In vivo* では，根未完成歯を有する 5 週齢雄性 Wistar 系ラットを用い，下顎第一臼歯近心根の歯髄を根尖孔まで除去後，EDA 含有 hDPSC/Col 複合移植材を根管に移植した（hDPSCs＋EDA 群）．比較群は，hDPSC/Col 移植群（hDPSCs 群），EDA 含有 Col 移植群（EDA 群），ならびに Col 単独移植群（Col 群）とした．処置 7 日後に脱灰切片を作製し，CXCR4 および酸化ストレスマーカーである 4-hydroxynonenal（4-HNE）の発現を免疫蛍光法で評価した．処置 28 日後には，micro-CT 画像および H-E 染色で組織再生量を評価した．さらに，象牙質マーカー（Dentin sialoprotein），象牙芽細胞マーカー（Nestin），および歯根膜マーカー（Periostin）の免疫染色により，再生組織の表現型を評価した．

【結果】*In vitro* におけるバルク RNA シーケンス解析の結果，ROS 存在下で EDA を添加した hDPSCs では，EDA 無添加条件と比較して CXCL12 の発現が有意に上昇した．この結果を踏まえ，ラット臼歯を用いた *in vivo* モデルでは，処置 7 日後に CXCL12 の受容体である CXCR4 の発現を評価した．CXCR4 陽性細胞は，EDA 含有群（hDPSCs＋EDA 群および EDA 群）の根管内で多く認められた．また，4-HNE 陽性細胞は EDA 含有群で少なかった．処置 28 日後では，全群で根管内に歯髄様組織の形成を認めたが，hDPSCs＋EDA 群では，Col 群と比較して再生組織量が有意に増加した．

【考察】EDA 含有群で 4-HNE 陽性細胞が減少したことから，EDA が酸化ストレスを軽減し，歯髄再生に適した微小環境を形成した可能性が示された．また，本研究で得られた *in vitro* および *in vivo* の結果から，EDA 添加による hDPSCs の CXCL12 発現増加が，CXCR4 陽性宿主細胞の根管内への集積に関与し，歯髄再生を促進した可能性が示された．さらに，EDA 単独による再生組織量の増加は限定的であったことから，hDPSCs＋EDA 群では，EDA による酸化ストレス制御と hDPSCs による再生促進効果が相補的に作用したことで歯髄再生が促進されたと考えられた．

【結論】EDA 含有 hDPSC/Col 複合移植材は，酸化ストレス制御機能を有する細胞移植材として，異種由来 DPSCs を利用した歯髄再生治療への応用に向けた基盤技術となる可能性が示された．

ヒト歯髄幹細胞のオリゴデンドロサイト分化における PDGF-BB の役割

[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
林 佳文[1]，祐田 明香[2]，孫 偉浩[1]，冉 子晴[1]，
御手洗 裕美[2]，原口 晃[2]，相原 良亮[2]，東條 紘樹[1]，和田 尚久[1]

The role of PDGF-BB in oligodendrocyte differentiation of human dental pulp stem cells

[1]Department of General Dentistry, Division of Interdisciplinary Dentistry, Faculty of Dental Science, Kyushu University
[2]Division of General Dentistry, Kyushu University Hospital
Lin Jiawen[1], Asuka Yuda[2], Sun Weihao[1], Ran Ziqing[1], Hiromi Mitarai[2], Akira Haraguchi[2],
Ryosuke Aihara[2], Hideki Tojo[1], Naohisa Wada[1]

Background and objective: Spinal cord injury (SCI) disrupts neural communication and causes motor, sensory and functional impairment. The treatments for SCI include medication and surgery. These approaches can protect neurons and promote neurological recovery, however, their neurorestorative effects remain limited. Previous studies showed that transplanted stem cells from human exfoliated deciduous teeth preserved neural fibers and myelin in experimental SCI (Sakai et al., 2012). Platelet-derived growth factor-BB (PDGF-BB) regulates cell proliferation, migration and differentiation through PDGF receptors, and PDGFRβ has specialized functions in nervous system cells (Funa et al., 2014). This study focused on PDGF-BB and PDGFRβ, which is potentially involved in the differentiation of dental pulp stem cells (hDPSCs) into oligodendrocytes. The aim of this study was to investigate whether PDGF-BB promotes oligodendrocyte-related differentiation of human dental pulp stem cells and clarified the involvement of PDGF receptor-mediated signaling.

Materials and methods: We used hDPSCs (Lonza). PDGFRα and PDGFRβ expression was examined by semi-qPCR. To evaluate the biological effects of PDGF-BB, hDPSCs were treated with different concentrations of PDGF-BB, and cell proliferation, chemotaxis and migration were assessed using CCK-8, transwell and scratch wound healing assay. HDPSCs were cultured in differentiation medium with or without PDGF-BB, and oligodendrocyte-related genes (Olig2, Sox10 and MBP) expression was analyzed by qRT-PCR. To evaluate the effect on PDGFRα and PDGFRβ, we used PDGFR inhibitors, and qRT-PCR performed to analyze the oligodendrocyte-related genes expression and evaluated cell morphology in hDPSCs. Western blotting assessed p-PDGFRβ, p-AKT, p-mTOR, p-p70S6K, Olig2 and MBP. Data were analyzed by one-way ANOVA followed by Tukey's multiple-comparison test.

Results: PDGFRα and PDGFRβ were expressed in hDPSCs by semi-qPCR. 5 ng/mL PDGF-BB significantly enhanced cell proliferation, chemotaxis, migration and oligodendrocyte-related genes expression. In the experiments using PDGFR inhibitors, PDGF-BB increased oligodendrocyte-related genes without inhibitors, whereas PDGFRβ inhibition markedly reduced Olig2 and MBP expression. Moreover, PDGF-BB promoted neurite-like extension, whereas PDGFRβ inhibition exhibited subtle extension. From western blotting analysis, p-PDGFRβ, p-AKT, p-mTOR, p-p70S6K, Olig2 and MBP were significantly upregulated in PDGF-BB and PDGFRβ inhibition compared with other groups. In addition, PDGFRβ inhibition suppressed Olig2 and MBP expressions.

Discussion: PDGF-BB might be an important factor involved in oligodendrocyte-like differentiation of hDPSCs by regulating oligodendrocyte-related genes and protein expression. Moreover, it might be possible AKT–mTOR–p70S6K signaling through PDGFRβ pathways. Our findings suggested that PDGFRβ primarily mediates early AKT-mTOR-p70S6K activation. Therefore, PDGF-BB and PDGFRβ signaling may play an important role in promoting oligodendrocyte-like differentiation of hDPSCs and provide a potential strategy for future remyelination therapy.

Conclusion: PDGF-BB promoted cell proliferation, chemotaxis, migration and oligodendrocyte-rerated genes of hDPSCs. PDGF-BB/PDGFRβ was the major receptor activation of the AKT-mTOR-p70S6K signaling pathway, and Olig2 and MBP were upregulated in hDPSCs. In addition, PDGF-BB promoted neurite-like extension of hDPSCs.

Senescent Dental Pulp Cells Promote Reparative Dentin Formation During Dental Pulp Wound Healing

[1]Department of Endodontology and Operative Dentistry, Faculty of Dental Science, Kyushu University,
[2]Department of Endodontology, Kyushu University Hospital [2]

○Jingyuan Jiang[1], Shinichiro Yoshida[2], Tomohiro Itoyama[1], Kei Toraya[1], Ziqi Zhang[1], and Hidefumi Maeda [1,2]

Background: Cellular senescence is a multifaceted process characterized by irreversible cell-cycle arrest in cells at risk of neoplastic transformation. It can be induced by a variety of stimuli, including telomere dysfunction, DNA damage, oncogene activation, alterations in chromatin organization, and strong mitogenic signals. Recently, senescent cells have been increasingly recognized as active regulators of tissue repair; however, their roles in dental pulp wound healing remain unclear. This study characterizes the temporal dynamics of senescent pulp cells following direct pulp capping and to clarify their roles in pulp wound healing.

Materials and Methods: ①Direct pulp capping with Mineral Trioxide Aggregate was performed on the left maxillary first molars of 8-week-old C57BL/6 mice. Samples collected on postoperative days 3, 5, 7, and 28 were analyzed by H&E staining and p21 immunofluorescence to examine the temporal distribution of senescent pulp cells. ②Primary human dental pulp cells (HDPCs; 25-year-old female) were rendered senescent by sequential treatment with 10 μM etoposide (24 h) and 1 μM Nutlin-3a (24 h), while untreated cells served as young HDPC controls (y-HDPCs). Senescence was confirmed by SA-β-gal staining, p21 immunocytochemistry, and RT-qPCR of senescence-associated markers (*p16*, *p21*, *GDF15*, *MMP1*, *MMP3* and *IL-1β*). To investigate the effects of senescent HDPCs (s-HDPCs) on dental pulp stem cells (DPSCs; Yoshida et al., 2016), transwell co-culture assays were performed to assess DPSC migration and mineralization using toluidine blue and Alizarin Red S staining, respectively. ③To determine the functional significance of senescent cells in vivo, mice received daily intraperitoneal injections of the senolytic agent ABT-263 (navitoclax; 10 μg/g) for one week after direct pulp capping, followed by histological analysis. All procedures were approved by the Animal Ethics Committee (approval number: A25-319-0) and the Research Ethics Committee of the Faculty of Dentistry, Kyushu University (approval number: 20A-3), and were conducted in accordance with the relevant institutional guidelines.

Results: p21-positive cells transiently increased beneath the pulp exposure site, increasing from postoperative day 3, peaking on day 5, and subsequently decreasing as reparative dentin formation progressed. H&E staining confirmed complete sealing of the exposure site by day 28. Sequential treatment with etoposide and Nutlin-3a successfully induced cellular senescence in HDPCs, as confirmed by positive SA-β-gal and p21 staining and significant upregulation of all examined senescence-associated genes compared with y-HDPCs. Co-culture with s-HDPCs significantly promoted both the chemotactic migration and mineralization of DPSCs compared with y-HDPC controls. In contrast, ABT-263 treatment impaired reparative dentin formation, and the pulp exposure site showed no reparative formation at day 28.

Discussion: Senescent cells transiently accumulated in the dental pulp during the early phase of wound healing and promoted the migration and mineralization of dental pulp stem cells *in vitro*. Pharmacological elimination of senescent cells impaired reparative dentin formation *in vivo*, suggesting that senescent cells contribute to pulp repair rather than merely representing a consequence of tissue injury. These findings indicate that senescent pulp cells play a beneficial role in coordinating reparative dentinogenesis and may represent a potential therapeutic target for enhancing vital pulp therapy.

Conclusion: Senescent dental pulp cells transiently accumulate after direct pulp capping and contribute to reparative dentin formation by promoting dental pulp stem cell recruitment and mineralization.

ラット象牙芽細胞様細胞(KN-3)を用いたチタン酸バリウムの生体適合性

[1]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
[2]九州歯科大学 生体材料学分野
髙橋 知弘[1,2], 村田 一将[1], 鷲尾 絢子[1], 池田 弘[2], 北村 知昭[1]

Biocompatibility of Barium Titanate with Rat Odontoblast-Like Cells

Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Department of Regenerative Science in Conservative Dentistry[1]
Department of Biomaterials[2]
Kyushu Dental University
TAKAHASHI Tomohiro[1,2], MURATA Kazumasa[1], WASHIO Ayako[1], IKEDA Hiroshi[2], KITAMURA Chiaki[1]

【目的】

覆髄や逆根管充填などに用いる歯科材料には、生体適合性に加えて組織治癒を促進する機能が求められている。そこで我々は、機械的応力を電気エネルギーに変換する圧電セラミックスに着目した。近年、圧電特性を利用した骨再生の促進など、整形外科領域における圧電セラミックスの生体材料への応用が検討されている。一方、歯科材料への応用例は多くなく、圧電特性が歯質や歯周組織に及ぼす影響は明らかではない。本研究では、代表的な圧電セラミックスであるチタン酸バリウム（BTO）を用い、BTO 焼結体および超音波照射が象牙芽細胞様細胞の増殖に及ぼす影響を検討した。

【材料と目的】

BTO 粉末を一軸プレス成形によってディスク状成形体を作製した。これを電気炉にて 1250℃で 3 時間焼成し、BTO 焼結体を得た。焼結体の微細構造は、走査型電子顕微鏡（SEM）を用いて観察した。ラット象牙芽細胞様細胞株 KN-3 を用い、CCK-8 アッセイにより細胞増殖を評価した。BTO 焼結体上に KN-3 細胞を播種し、12 時間後に初回の低出力パルス超音波（LIPUS）照射を行った。その後は 24 時間ごとに、周波数 1.5 MHz、出力 60 mW/cm^{2}の条件で 1 日 20 分間照射した。実験群は、BTO 焼結体上で培養し LIPUS を照射しない群（BTO-L-群)、BTO 焼結体上で培養し LIPUS を照射する群（BTO-L＋群)、通常の培養ディッシュ上で培養し LIPUS を照射しない群（Cont-L-群)、および培養ディッシュ上で培養し LIPUS を照射する群（Cont-L＋群）の 4 群とした。統計解析には一元配置分散分析および Tukey 法による多重比較検定を用い、有意水準を 5%とした。

【結果】

BTO-L-群と Cont-L-群との間で、細胞増殖に有意差は認められなかった。また、BTO-L-群と BTO-L＋群、および Cont-L-群と Cont-L＋群との間にも有意差は認められず、本照射条件における LIPUS は KN-3 細胞の増殖に影響を及ぼさなかった。

【考察】

本実験条件下において、BTO 焼結体は KN-3 細胞の増殖を阻害しないことが示唆された。また、LIPUS の照射による KN-3 細胞の細胞活性への影響も認められなかった。BTO は機械的刺激によって表面に電位を生じ、この電気的刺激が骨芽細胞などの細胞機能に影響を及ぼすことが報告されている。したがって、BTO と LIPUS の併用が、細胞増殖以外の KN-3 細胞の機能に影響を及ぼす可能性がある。今後は、象牙芽細胞分化関連マーカーなどを解析し、BTO と LIPUS の併用が KN-3 細胞の分化に及ぼす影響を検討する必要がある。

【結論】

本実験条件下において、BTO 焼結体および LIPUS 照射は、KN-3 細胞の増殖を阻害しなかった。BTO と LIPUS の併用が象牙芽細胞様細胞の分化および機能に及ぼす影響について、さらなる検討が必要である。

バイオセラミックス系材料が破骨細胞の分化に及ぼす影響

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]
○伊藤圭祐[1]，安川拓也[1,2]，林 誠[1,2]，武市 収[1,2]

Effects of bioceramic materials on osteoclast differentiation

Departments of Endodontics[1],DivisionofAdvanced Dental treatment, Dental Research Center[2],
Nihon University School of Dentistry
Keisuke Ito[1], Takuya Yasukawa[1,2], Makoto Hayashi[1,2], Osamu Takeichi[1,2]

【研究目的】

近年，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が根管充填，覆髄，逆根管充填および穿孔封鎖など多岐にわたって臨床応用されている。その中でMTAを代表とするケイ酸カルシウム系のバイオセラミックス系材料は水分と反応することでヒドロキシアパタイトを生成し，Ca^{2+}を放出することが知られており，骨芽細胞の分化を促進して，硬組織形成を誘導するとの報告がある。しかしながら，根尖周囲組織における骨のリモデリングは骨芽細胞だけではなく破骨細胞も関与しており，ケイ酸カルシウムセメントによる破骨細胞への影響や抑制メカニズムの詳細は明らかにされていない。

本研究では，国産初のMTA配合根管充填シーラーであるMTA Multi Sealer(クラーク)に着目し，本材から放出されるCa^{2+}が破骨細胞の分化に及ぼす影響を検討することを目的とした。

【材料および方法】

被験試料として MTA Multi Sealer および ProRoot MTA (デンツプライシロナ)を用いた。

また，破骨細胞前駆細胞として RAW264.7(マウス腹水由来の単球／マクロファージ)を用いた。

試料の調整

MTA Multi Sealer は製造者の指示通り粉液比 1:1 の条件にて混和, 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 5mm，厚さ 4mm と直径 4mm，厚さ 2mm の型枠に填入し，37℃，相対湿度 100%，5%CO_2 の条件下で 24 時間静置し硬化後 α-minimum essential medium (α-MEM)中に 2 日間浸漬した。

細胞培養

RAW264.7 細胞を播種した細胞培養用プレートのウェル内に 50ng/ml に調整した RANKL を添加し，同時に試料を設置した cell culture insert を静置した。なお, RANKL 刺激 2 日後に培地交換を行った。

試料を設置しないものを陰性コントロールとした。

1. TRAP 染色

TRAP 染色キット（コスモバイオ）を用いて製造者指示に従い細胞を染色した。

2. RAW264.7 細胞に対する生体親和性

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。

なお，細胞数測定における培養では, RANKL 刺激による巨細胞形成は評価に影響を及ぼすため, RANKL による刺激は実施しなかった。

3. 被験試料から遊離するCa^{2+}濃度の測定

本実験条件における被験材料より遊離するCa^{2+}濃度を Calcium E-test Wako(和光純薬)を用いて測定した。

【結果】

TRAP 染色において, MTA Multi Sealer および ProRoot MTA ともに陰性コントロールと比べて破骨細胞分化の抑制が認められた。また, MTA Multi Sealer および ProRoot MTA の細胞数は陰性コントロールと同程度で，細胞生存率に影響を及ぼさなかったことから細胞毒性による破骨細胞分化の抑制ではないことが確認された。Ca^{2+}濃度測定試験では MTA Multi Sealer は ProRoot MTA と同程度のCa^{2+}の放出量であった。

【考察および結論】

以上のことから,MTA Multi Sealer と ProRoot MTA から放出されるCa^{2+}によって，細胞生存率に影響することなく破骨細胞の分化を抑制する可能性が示唆された。

Ca^{2+}が破骨細胞分化過程に影響を及ぼし,その結果として破骨細胞分化が抑制された可能性が考えられる。

コレステロール結晶がラット根尖性歯周炎モデルに及ぼす影響

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
○栁口嘉治郎、尾崎幸生、大平真之、吉村篤利

The effect of cholesterol crystals on a rat apical periodontitis model

Department of Periodontology and Endodontology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences
○Kajiro Yanagiguchi, Yukio Ozaki, Masayuki Oohira, Atsutoshi Yoshimura

【目的】

根尖性歯周炎は、通常の感染根管治療によって約 90%の高い治癒率が期待できるが、適切な治療が行われたにもかかわらず炎症が改善しない症例があり、これらは難治性根尖性歯周炎に分類される。難治性根尖性歯周炎においては、しばしば根尖病変内に析出したコレステロール結晶がマクロファージや異物巨細胞に取り囲まれた状態で長期間残存することがある。そこで本研究ではラットの上顎第一臼歯を用いた実験的根尖性歯周炎モデル及び *in vitro* における破骨細胞形成系を用いてコレステロール結晶が根尖病変の形成・進展に及ぼす影響を検討した。

【実験方法】

本研究は長崎大学大学院医歯薬学総合研究科バイオメディカルモデル動物研究センターの承認を得て実施された（承認番号：2406041954-3）。６週齢 Wistar 系雄性ラットに３種混合麻酔薬を腹腔内投与した後、ラバーダム防湿下にてマイクロスコープ観察下で上顎両側第一臼歯の断髄を行った。近心根以外の４根の根管口は断髄後、コンポジットレジンにて封鎖を行い近心根の根管口のみ開放状態にした。両側とも近心根根管を作業長 3.5 mm で#35 まで拡大したままの状態で２週間放置し、実験的根尖性歯周炎を惹起させた。実験期間中の歯の破折を防ぐために当該歯の咬合面を削合した。露髄２週間経過後に、マイクロ CT 撮影を行い根尖部の病変の大きさを測定した。次亜塩素酸ナトリウムによる根管洗浄後、ペーパーポイントによる根管乾燥を行った後に、左側のみコレステロール結晶を注入、右側は未注入のままの状態で両側ともコンポジットレジンで封鎖した。１週間経過後に両側ともマイクロ CT 撮影を行い、コレステロール結晶が根尖病変に与える影響を検討した。

In vitro において、コレステロール結晶の破骨細胞形成への関与を検討するため、RANKL でプライミングした骨髄由来マクロファージ（BMM）をリポ多糖（LPS）及びコレステロール結晶で刺激した。破骨細胞形成は、酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ染色及び破骨細胞関連遺伝子（*Nfatc1, Ctsk, Nmp9, Acp5*）の発現解析により評価した。NLRP3 インフラマソームおよびインターロイキン１β（IL-1β）の関与を、qRT-PCR 及び特異的阻害剤(MCC950, Z-YVAD-FMK, IL-1ra)を用いて評価した。

【結果】

露髄２週間後に撮影した CT 画像から、両側第一臼歯近心根に実験的根尖性歯周炎の形成が確認された。コレステロール結晶を注入せず封鎖した対照側では、１週間後に根尖病変の大きさにほとんど変化は認められなかった。一方、コレステロール結晶を注入した実験側では根尖病変の有意な拡大が観察された。

In vitro 解析では、低濃度のコレステロール結晶は、RANKL 及び LPS で刺激した BMM における破骨細胞形成を有意に促進した。一方、高濃度では細胞毒性が認められた。また、コレステロール結晶は RANKL 及び LPS で刺激した BMM において *Nfatc1, Mmp9, Acp5* の発現を上昇させるとともに、IL-1β産生を促進した。さらに IL-1ra 及び NLRP3/ガスパーゼ-1 阻害剤により、破骨細胞形成は著明に抑制された。

【考察】

本研究の結果から、コレステロール結晶はラット根尖性歯周炎モデルにおいて根尖病変の拡大を促進することが示された。また、*in vitro* における解析により、コレステロール結晶は、NLRP3 インフラマソームの活性化及び IL-1β産生を介して破骨細胞形成を増強し、根尖部骨破壊を促進することが示唆された。今後、病理組織切片を作製し、根尖病変部におけるコレステロール結晶の局在及び病態形成への関与について、さらに詳細に解析していく予定である。

根管充填用シーラーにレスベラトロールを併用することによる骨芽細胞への影響

松本歯科大学歯科保存学講座[1]，生化学講座[2]
○佐々木惣平[1]，河村裕太[1]，上原俊介[2]，増田宜子[1]

Effects of combined use of Resveratrol with root canal sealer on osteoblasts

Department of Cariology, Endodontology and Periodontology[1],
Department of Biochemistry[2],
Matsumoto Dental University
○Souhei Sasaki[1], Yuuta Kawamura[1], Shunsuke Uehara[2], Yoshiko Masuda[1]

レスベラトロール（RSV）はポリフェノールの一種である。赤ワインなどに含まれ、心血管関連疾患の予防効果が期待されているほか、寿命延長・抗炎症・抗癌・認知症予防・放射線による障害の抑止・血糖降下、脂肪の合成や蓄積に関わる酵素の抑制などの様々な効果が期待、研究されている。

【目的】

これまでの研究にて、根管充填用シーラーで作成したタブレットとRSVを加えた液体培地を併用して骨芽細胞の培養を行い、アルカリフォスファターゼ活性を調べる事により、RSVと根管充填材の併用により骨芽細胞のアルカリフォスファターゼ活性が上昇する可能性が示唆された。

今回、さらに遺伝子発現を調べることによりRSVによる骨芽細胞の反応をより詳細に調べた。

【材料と方法】

骨芽細胞は1日齢のddy mouse頭蓋骨より単離し培養したものを用いた。

根管充填用シーラーはMTAマルチシーラー（株式会社クラーク 埼玉)を根管充填用に練和し、高さ2mm,直径4mmのタブレット状に形成し24時間経過させ硬化したものを用いた。

10% FBSを加えたα-MEM培地で骨芽細胞を24wellプレート中で培養した。48時間後に石灰化誘導培地(10 μg/ml アスコルビン酸＋10 mM βグリセロリン酸含有)に交換し、5 μM RSV存在下又は非存在下で24時間培養した。タブレット有り群に関しては、RSV添加と同時にトランスウェルメンブレン上にシーラータブレットを乗せ、培養期間終了まで設置し続けた。RSV除去後、石灰化誘導培地で7日間培養した。Trizolを用いて、Cell lysateを回収後、Nucleospinカラムを用いてRNAを精製した。ReverTra Ace qPCR RT Master Mixを用いて合成したcDNAをRT-PCRに供した。各群におけるAlpl及びCol1a1の発現量を-ΔΔCt法を用いて比較した。

【結果】

リアルタイムPCR法により、タブレットを設置したプレートではRSVの添加により、Alpl、Col1a1両者の発現上昇がみられた。

【考察及び結論】

本実験ではRSVが骨芽細胞に対し為害作用を有さず、またシーラータブレットによる細胞活性の低下を回復させる作用をもたらす事が示され、シーラーと併用した際の硬組織誘導の可能性が示唆された。

今後、さらに長期の培養をおこない硬組織形成に関する遺伝子発現についても同様に調べる予定である。

動物実験承認番号：379

ヒト歯髄線維芽細胞様細胞の Interleukin-6 産生における Lipopolysaccharide の影響

大阪歯科大学・有歯補綴咬合学講座[1]、生理学講座[2]
李　玲[1]、田中順子[1]、井上　博[2]、寒川延子[2]、合田征司[2]、柏木宏介[1]

Effects of lipopolysaccharide on interleukin-6 production in human dental pulp fibroblast-like cells

[1]Department of Fixed Prosthodontics and Occlusion, and [2]Department of Physiology, Osaka Dental University
Ling Li[1], Junko Tanaka[1], Hiroshi Inoue[2], Sougawa Nagako[2], Seiji Goda[2], Kosuke Kashiwagi[1].

【目的】

歯髄炎は、様々な外部刺激に対する反応として生じる歯髄組織の炎症性病変である。その原因の一つとして、細菌や細菌代謝産物の歯髄腔への侵入が挙げられる。Lipopolysaccharide (LPS)はグラム陰性菌の外膜に存在する主要構成成分で、極めて強力な炎症誘導物質である。本研究ではヒト歯髄線維芽細胞様細胞 (HDPF)における炎症の発症と発展機序を解明するために HDPF を用いて LPS 刺激による IL-6 産生について検討した。また、IL-6 産生における細胞内シグナル伝達経路について MAPK ファミリー(p38, ERK1/2, JNK)についても検討した。

【方法と結果】

(1) HDPF を 96 well plate に 2.0×10^4 cells / well で播種し、1μg/mL LPS で 24 時間刺激した。刺激後に上清を回収し、IL-6 産生を ELISA にて確認した。その結果、LPS 刺激により IL-6 の産生が増加することを確認した。

(2) HDPF を 12 well plate に 1.0×10^5 cells / well で播種し、1μg /mL LPS で刺激後 30 分まで MAPK ファミリー (p38, ERK1/2, JNK) のリン酸化タイムコースを検討した。刺激後にサンプルを作成し、各種 MAPK (p38, ERK1/2, JNK)のリン酸化を Western Blotting にて検討した。その結果、LPS 刺激により各種 MAPK (p38, ERK1/2, JNK)のリン酸化が増強することを確認した。

【考察】

以上の結果から、LPS は HDPF において IL-6 産生を誘導することが示唆された。また，その IL-6 産生のメカニズムには各種 MAPK (p38, ERK1/2, JNK)のリン酸化が関与している可能性が示唆された。

本研究は、大阪歯科大学医の倫理委員会の承認を得て行った（承認番号 111300)。

【利益相反】

本研究において開示すべき利益相反関係にある企業はない。

LAMP 法を用いた *Methanobrevibacter oralis* の迅速検出法の開発

大阪歯科大学　口腔治療学講座
○蘭　満莉乃，宮本綾乃，島岡　毅，水谷　翔，前田博史

Development of a Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) Assay for Rapid Detection of Methanobrevibacter oralis

Department of Endodontics, Osaka Dental University
○Marino ARARAGI, Ayano MIYAMOTO, Tsuyoshi SHIMAOKA, Sho MIZUTANI, Hiroshi MAEDA

【背景・目的】

Methanobrevibacter oralis は、ヒト口腔内に生息するメタン生成古細菌であり、歯周病患者の歯肉縁下プラークや感染根管、根尖性歯周炎の病変部などから検出されることが報告されている。しかし、その病態への関与は十分に解明されておらず、臨床的意義を明らかにするためには迅速かつ高感度な検出法が必要である。本研究の目的は、Loop-mediated isothermal amplification (LAMP)法を用いて *M. oralis* の迅速検出法を開発し、その特異性および検出感度を評価することである。

【材料および方法】

1.供試菌: *Methanobrevibacter oralis* JCM 30027^{T}、*Methanobrevibacter smithii* JCM 30028^{T}、その他 口腔内関連微生物 12 菌種

2.鋳型 DNA の調整: REPLI-g Kit (Qiagen)によってゲノム DNA を増幅し、LAMP 反応に使用した。

3.LAMP primer: *M. oralis* の 16S rRNA 遺伝子を標的とし、類縁菌種である *M. smithii* と異なる塩基配列が可及的に含まれるように設計した。設計には Primer explorer (Eiken)を使用し、遺伝子増幅効果を高くする目的でループプライマーを追加設計した。

4.LAMP 反応: 操作マニュアルに従い、反応液を調整し、60-66 ℃の範囲でプライマーの特異性を調べた。特異性試験では *M. smithii*、ならびに 12 種類の口腔微生物ゲノム DNA を鋳型として使用した。さらに、遺伝子増幅産物の制限酵素断片長多型解析(RFLP 解析)を行うことで、標的遺伝子が増幅されていることを確認した。検出感度試験では段階希釈した鋳型 DNA を使用して 30 分、ならびに 60 分の LAMP 反応を行った。対照として PCR 法による遺伝子増幅を行い、検出感度を比較した。

5.増幅産物の検出: 1.5% アガロース電気泳動、ならびに SYBR-Green I 添加による目視判定を行った。

【結果】

1. 5 種類のプライマーセットを設計した。この中で 1 種類のプライマーセットが反応温度 65-66℃の条件下で特異的に *M. oralis* の遺伝子を増幅することができた。RFLP 解析では予測される遺伝子断片長を電気泳動で検出することができた。

2. Loop primer 非添加条件では 65 ℃、60 分の反応時間で検出限界が鋳型ゲノム DNA 量 10^{-3} ng であった。これに対し、Loop primer 添加条件では検出限界がゲノム DNA10^{-7} ng、30 分の反応でも鋳型 DNA 量 10^{-4} ng まで遺伝子の増幅を検出することができた。PCR 法の検出限界は鋳型ゲノム DNA 量 10^{-5} ng であった。電気泳動法による検出感度と SYBR-Green I 添加による目視判定では検出感度に差を認めなかった。

【考察・結論】

本研究で開発した *M. oralis* 検出法は、高い特異性を示し、ループプライマーの導入により反応速度が向上し、PCR 法と比較して高い検出感度と迅速性を有することが明らかとなった。本法は *M.oralis* の迅速かつ高感度な検出法として臨床応用できる可能性が高いと考える。

均一二相性リン酸カルシウムセメント（BCPC）が齲蝕原性菌に及ぼす影響について

日本大学歯学部歯科保存学第II講座[1]，日本大学歯学部感染症免疫学講座[2]，
日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医療研究部門[3]，日本大学歯学部総合歯学研究所生体防御部門[4]，
日本大学歯学部[5]，菅原歯科[6]
○井上聖也[1]，鈴木裕介[1,3]，林　誠[1,3]，田村宗明[2,4]，菅原明喜[5,6]，武市　収[1,3]

The Effects of Biphasic Calcium Phosphate Cement (BCPC) on Cariogenic Bacteria

Department of Endodontics[1], Department of Microbiology and Immunology[2],
Division of Advanced Dental Treatment[3], Division of Immunology and Pathobiology[4], Dental Research Center,
Nihon University School of Dentistry[5], and Sugawara Dental Clinic[6]
○Seiya Inoue[1],Yusuke Suzuki[1,3],Makoto Hayashi[1,3],Tamura Muneaki[2,4],Akiyoshi,Sugawara[5,6],Osamu Takeichi[1,3]

【研究目的】

均一二相性リン酸カルシウムセメント(Biphasic calcium phosphate cement: BCPC)は，α-リン酸三カルシウム(α-tricalcium phosphate: α-TCP)とリン酸四カルシウム(tetracalcium phosphate: TTCP)が同一粒子中に分散している。その結果，BCP は単峰性の粒度分布を示し，最終産物であるハイドロキシアパタイト(HA)結晶の安定した生成を可能としている。そのため，BCPC による象牙細管内への HA 結晶の生成は，象牙質知覚過敏症に対する長期効果持続性が期待される。象牙質知覚過敏症は，歯肉退縮に伴う象牙質露出により発症するが，露出象牙質面は，プラークの停滞と酸性環境の影響を受け，根面う蝕に罹患しやすいため，歯の表面におけるバイオフィルムの制御が不可欠である。

そこで，象牙質知覚過敏抑制材として BCPC が，齲蝕原性菌である *Streptococcus mutans* と *Lacticaseibacillus casei* に及ぼす抗菌作用を解析し，抗齲蝕作用を有する可能性について検討した。

【材料と方法】

① 供試材料

BCPC: 粒径 D50=8.0 ㎛ (BCPC-S)と BCPC: 粒径 D50=12.6 ㎛ (BCPC-L)を，練和直後及び練和後 24 時間(以下，24 時間後とする)の 2 条件で供試した。Control として，ティースメイト®ディセンシタイザー (クラレノリタケデンタル)を使用した。なお，24 時間後硬化体 BCPC とティースメイトは内径 5 ㎜×5 ㎜×7 ㎜に成型したシリコン印象材の型枠内で硬化させたものを使用した。BCP の練和は以下の条件とした。

Powder (BCP 粉末+1.5 M クエン酸 3 ナトリウム)＋Liquid (2.5M 酸性リン酸カルシウム溶液) (P/L ratio=3.0)

② 被験菌および培地

被験菌として *S. mutans* (ATCC25175)，*L. casei* (ATCC393)を使用した。前培養には BHI 培地を用いた。

③ 改良型寒天拡散法による判定

BHI 寒天培地を作製し，加圧蒸気滅菌後に 56℃に保温，*S. mutans* と *L. casei* の培養菌液をそれぞれ添加・混和して滅菌プラスチックシャーレに分注，滅菌した金属ダボ (直径 5 ㎜×長さ 14 ㎜)を静置した。培地固化後にダボを撤去，形成されたウェル (5 ㎜×5 ㎜×7 ㎜)に試料を充填して 24 時間培養した。培養後，試料周囲の発育阻止帯の最大径(㎜)を，電子ノギスで計測し評価した。

④ 統計解析

二元配置分散分析を行い，有意水準 5%で判定した。

【結果と考察】

S. mutans の阻止円径は，BCPC-S および BCPC-L ともに練和直後と比較して 24 時間後に有意に増加したが，ティースメイトでは有意な変化を認めなかった。また，BCPC-S は練和直後と 24 時間後のいずれにおいても，BCPC-L とティースメイトより有意に大きな径を示した。*L. casei* においては、BCPC-L および BCPC-S ともに，練和直後と 24 時間後の間で阻止円径に有意な変化を認めなかった。一方，ティースメイトでは 24 時間後に阻止円径が有意に減少した。練和直後ではティースメイトが両 BCPC より大きな阻止円径を示したが，24 時間後では BCPC-S，BCPC-L，ティースメイトの順となり，すべてのセメント間に有意差を認めた。以上のことから，BCPC においては，粒径の大きさの違いが抗菌作用に関係することが推察された。

【結論】

BCPC は，抗齲蝕作用を有する可能性が示唆された。今後は，細菌の増殖抑制機序などを検討し，詳細な評価を検討する予定である。

嫌気性アルカリ培養系における *Enterococcus faecalis* のトランスクリプトーム解析

[1)]昭和医科大学大学院歯学研究科歯内治療学分野
[2)]山口大学中高温微生物センター
[3)]国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センター
[4)]昭和医科大学大学院歯学研究科口腔微生物学講座
○三木　優[1)],前野　慎太朗[2)],橋野　正紀[3)],深町　はるか[4)],鈴木　規元[1)]

Transcriptomic Analysis of *Enterococcus faecalis* Under Anaerobic Alkaline Culture Conditions

[1)]Department of Endodontology, Showa Medical University Graduate School of Dentistry
[2)]Research Center for Thermotolerant Microbial Resources, Yamaguchi University
[3)]Pathogen Genomics Center, National Institute of Infectious Diseases, Japan Institute for Health Security
[4)]Department of Oral Microbiology and Immunology, Showa Medical University Graduate School of Dentistry
○Suguru Miki[1)], Shintaro Maeno[2)], Masanori Hashino[3)], Haruka Fukamachi[4)], Noriyuki Suzuki[1)]

【背景】

Enterococcus faecalis は、根管治療後に再発した難治性根尖性歯周炎から高頻度に検出される細菌であり、持続感染および治癒不全の主要な原因菌の一つと考えられている。本菌はバイオフィルム形成能、象牙細管内への侵入能、栄養飢餓・酸化ストレス・アルカリ環境などの過酷な環境に対する高い適応能を示し、根管貼薬剤として広く用いられる水酸化カルシウム製剤存在下でも生存することが報告されている。そこで本研究では、感染根管内環境を模倣した嫌気性アルカリ培養系を構築し、本培養系における *E. faecalis* のトランスクリプトーム解析を行うことにより、アルカリ耐性に関与する分子機構を明らかにすることを目的とした。

【方法】

ハンゲートチューブ（ガス不透過性のゴム栓とネジキャップで密閉した嫌気性微生物培養用のガラスチューブ）を用いた窒素ガス置換下の嫌気性培養系において、BHI 液体培地を Na_2HPO_4 および KOH により pH7.0 および pH9.5 に調整し滅菌後、*E. faecalis* ATCC 29212 株を培養した。培養期間中の濁度および培地 pH の経時的変化を測定した。さらに、両 pH 条件下の対数増殖期菌体から RNA を抽出し、品質基準を満たした RNA を用いて Illumina MiSeq i100 platform（2×150 bp paired-end）による RNA-seq を実施した。

【結果】

新たに構築した培養系では、pH9.5 のアルカリ環境を 1 週間安定して維持できた。また、*E. faecalis* は pH9.5 条件下においても増殖を示した（図 1）。RNA-seq 解析では、pH9.5 群と pH7.0 群の比較において、アルカリ環境に応答して有意に発現が変動する遺伝子が認められた。さらに、これらの遺伝子について機能分類および分子ネットワークの解析を行い、アルカリストレス応答に関与する遺伝子群を同定した。

【考察】

本研究では、感染根管内環境に近い嫌気性アルカリ培養系を構築し、*E. faecalis* のアルカリ環境下における遺伝子発現変動を網羅的に解析した。本解析により、水酸化カルシウム抵抗性に関与する分子基盤の理解が進むとともに、難治性根尖性歯周炎に対する新たな治療標的や根管貼薬法の開発への進展が期待される。

【謝辞】
本研究は昭和医科大学大学院歯学研究科口腔微生物学講座 教授 桑田啓貴先生の協力を得て実施された。

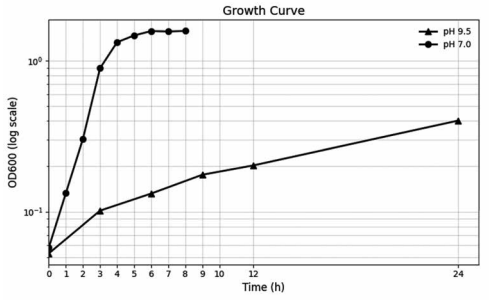


図 1:Growth curves of *E. faecalis* at pH 7.0 and 9.5.

新規カルシウムシリケート系根管充填シーラーの操作時間に関する評価

株式会社ジーシーR&D
○相川奨真，立野敦史，平野恭佑

Evaluation of the working time of a novel calcium silicate-based root canal sealer

GC R&D CORPORATION, TOKYO, JAPAN
○Shoma Aikawa, Atsushi Tachino, Kyousuke Hirano

【研究目的】

近年，優れた生体活性を有するカルシウムシリケートやバイオガラスを含有したバイオセラミック系根管充填シーラーが注目を集めている。これらの材料は，主にシングルコーンテクニックと併用することで高い根管封鎖性や生体親和性が期待できる。一方で，充填後の硬化速度が著しく早い場合，ガターパーチャポイントを作業長まで挿入できずに根管封鎖性が低下すると考えられる為，充填操作中に適切なペースト性状を維持することは重要な材料特性の一つと言える。本研究では新規カルシウムシリケート系根管充填シーラー試作品（以下，NNS-007 と表記）の操作時間および，硬化性の指標として圧縮強度を評価することを目的とした。

【材料および方法】

NNS-007 および歯内療法に用いられる比較材料 3 製品（製品 A，製品 B，製品 C）の計 4 群を対象とした。各製品は添付文書に従って準備し，以下の方法で試験を実施した。

［操作時間］ JIS T 6522: 2015 を準用し，評価した。ペーストをガラス板上に吐出し，37℃，90±5%RH の恒温恒湿槽内に任意の時間静置した。時間経過後にガラス板を取り出し，ガラス板および重りで荷重をかけた。7 分後に重りを取り外し，広がったペーストの長径と短径を測長し，その平均値を稠度として記録した。その後，横軸に静置時間，縦軸に稠度をプロットして回帰直線を求め，稠度が 17 mm となる時間を操作時間と定めた。

［圧縮強度］ ISO 9917-1: 2025 を参考に圧縮強度を評価した。硬化に水を要する製品には，ペーストに対して 10wt%の蒸留水を加え練和し，試験型に充填した。37℃，90±5%RH 環境下で試験型ごと 1 週間硬化させ，得られた硬化体を用いて，オートグラフにより圧縮強度を測定した。

統計解析には一元配置分散分析（one-way ANOVA）後，Tukey-Kramer により多重比較検定を行った。有意水準は 5%とした。

【結果および考察】

NNS-007，製品 A，製品 B，製品 C の操作時間は，それぞれ 36.1 分，28.2 分，2.7 分，7.0 分であり，NNS-007 が有意に長い操作時間を示した。一方，圧縮強度はそれぞれ 4.3 MPa，1.2 MPa，1.1 MPa，6.8 MPa であり，NNS-007 は製品 A，製品 B と比較して有意に高い圧縮強度を有していた。すなわち，初期硬化反応を制御することで操作時間を確保した場合に懸念される硬化後の圧縮強度の低下は認められなかった。これらの結果は，NNS-007 において初期の反応性を制御しながらも，最終的な硬化反応を阻害しない材料設計により得られたものと考察している。これらの結果より，NNS-007 において複数根管の治療等，充填からガターパーチャの挿入までに時間のかかる症例においても使用できる十分な操作時間と機械的強度の両立が示唆された。

【結論】

新規カルシウムシリケート系根管充填シーラー試作品「NNS-007」は比較材料よりも長い操作時間を示しつつ，十分な硬化後の圧縮強度を維持しており，複数根管の治療など操作に時間を要する症例においても適用可能な材料であることが示唆された。

清拭方法の違いが根管充塡用シーラーの象牙細管内浸透に及ぼす影響

[1]日本歯科大学生命歯学部歯科保存学講座，[2]日本歯科大学附属病院総合診療科 1
○烏帽子田珠希[1]，三枝慶祐[1,2]，古田賢太朗[2]，興地隆史[1]

Effects of Different Cleaning Methods on the Intratubular Penetration of Root Canal Sealers

[1]Department of Endodontics, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Tokyo
[2]Division of General Dentistry 1, The Nippon Dental University Hospital
○EBOSHIDA Tamaki[1], SAIGUSA Keisuke[1,2], FURUTA Kentaro[2], and OKIJI Takashi[1]

【緒言】根管充塡時には，根管壁の象牙質表面に付着した余剰な根管充塡用シーラー(以下:シーラー)に対して，綿球などによる清拭が行われている．しかし，シーラーは象牙細管内へ浸透するため，象牙質表面の清拭のみでは十分に除去できず，その後の接着操作に影響を及ぼす可能性がある．そこで本研究では，根管壁象牙質へのシーラー付着モデルを作製し，清拭方法の違いが各種シーラーの象牙細管内浸透に及ぼす影響について，共焦点レーザー走査型顕微鏡(以下:CLSM)を用いて評価した．

【材料と方法】ウシ抜去歯歯根片に直径 3.0 mm の円筒形窩洞を形成し，3.0%次亜塩素酸ナトリウムおよび 17%EDTA で各 1 分間処理した後，長軸方向に切断して半割試料を作製した．被験シーラーとして AH プラスジェット(エポキシレジン系,Dentsply Sirona,以下:AH)，メタシール Soft ペースト(メタクリレートレジン系,サンメディカル,以下:MS)およびニシカキャナルシーラーBG multi(バイオセラミックス系，日本歯科薬品，以下:BG)の 3 種類を使用した．シーラーはローダミン B を 0.10 wt%添加して標識した．清拭方法は，乾燥綿球清拭群(DC 群)，70%エタノール含浸綿球清拭群(ET 群)，およびカタナクリーナー(MDP 塩含有歯面清掃材，クラレノリタケデンタル)をメーカー指示に従って使用した清拭群(KC 群)の 3 群とし，3 種のシーラーとの組合せから 9 群(n=10)，計 90 試料を作製した．各シーラーを象牙質面に塗布後，37℃湿潤環境下で 5 分間静置し，各清拭操作を行ったのち，同環境で 24 時間保管した．その後，試料を歯軸と直交する方向に厚さ 1.0 mm で切り出し，CLSM (LSM 910, Carl Zeiss)を用いて観察した．得られた画像について,窩洞壁から 100,200 および 500 μm の範囲に半円形の関心領域を設定し,画像処理・解析ソフト (ImageJ Fiji, NIH) を用いて Otsu 法による自動二値化を行った．各関心領域内の蛍光陽性面積率を象牙細管内浸透面積率として算出し，シーラーおよび清拭方法間で比較した．統計解析には統計解析ソフト SPSS (IBM SPSS Statistics Version 25, IBM) を用い，シーラーおよび清拭方法を要因とする二元配置分散分析を行った．また，各シーラー内および各清拭方法内の比較には一元配置分散分析または Welch の分散分析を用い，多重比較には Bonferroni 法，Tukey 法または Games-Howell 法を用いた．有意水準は 5%とした．

【結果・考察】二元配置分散分析の結果，100，200 および 500 μm のすべての評価領域において，シーラーと清拭方法との間に有意な交互作用を認めた．シーラーの主効果はいずれの評価領域でも認められず，清拭方法の主効果は 200 μm でのみ認められた．そこで，交互作用の内容を検討するため，各シーラー内および各清拭方法内で比較した．シーラーごとの比較では，AH の 200 μm において KC 群が ET 群より低値を示し，MS の 100 および 200 μm では ET 群が DC 群より低値を示した．一方，BG ではいずれの評価領域においても清拭方法間に有意差を認めなかった．清拭方法ごとの比較では，DC 群の 500 μm において MS が BG より高値を示し，ET 群の 100 および 200 μm では AH が MS より高値を示した．以上より，清拭方法が象牙細管内浸透面積率に及ぼす影響はシーラーの種類によって異なると考えられた．とくに MS では ET 群が DC 群より低値を示したことから，エタノール含浸綿球による清拭が象牙細管内へのシーラー残存の抑制に有効である可能性が示された．これらの違いには，各シーラーの材料組成や清拭方法との相互作用が関与した可能性が考えられた．

【結論】象牙細管内へのシーラー浸透面積率に対する清拭方法の影響は、使用するシーラーの種類に依存して変動することが見出された。余剰シーラーの象牙細管内への残存を抑制するためには，シーラーの種類に応じた清掃方法を選択する必要があることが示唆された．

ガッタパーチャポイント規格の違いが JIZAI#25/.06 形成湾曲根管模型のシングルポイント根管充填状態に及ぼす影響

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
井手彩集, 槌谷賢太, 矢後亮太朗, 三宅凛, Islam Asiful, 権藝智, 清水真菜, 長川直樹, 友清淳

Influence of gutta-percha cone size and taper on single-cone obturation quality after JIZAI #25/.06 preparation in curved canal models

Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Faculty of Dental Medicine, Hokkaido University
Ayai Ide, Kenta Tsuchiya, Ryotaro Yago, Rin Miyake, Islam Asiful,
Ieji Kon, Mana Shimizu, Naoki Nagakawa, Atsushi Tomokiyo

【緒言】

根管治療の予後を左右する因子の一つとして、根管系の緊密な封鎖が挙げられる。近年は硬化後に微膨張するバイオアクティブシーラーを応用した、シングルポイント法による根管充填の実施頻度が増加しつつある。シングルポイント法では他の根管充填法と比較しシーラーの割合が増加することから、根管系の封鎖がガッタパーチャポイント(GP) の適合状態や根管系へのシーラーの流入状態等に影響を受けることとなる。したがって、シングルポイント根管充填時に選択する GP の先端径やテーパーが根管系の封鎖状態に影響を及ぼすことは容易に推察される。株式会社 Mani より発売されているニッケルチタンファイル「JIZAI」は高い柔軟性を示すことから、湾曲根管においても元の根管形態を保持した根管形成を可能とする。しかしながら、ファイルの弾性等により実際に形成される根管は公称の先端径やテーパーと一致しない可能性があるにもかかわらず、どの規格の GP が JIZAI にて形成された根管に最も適合するかは十分に検証されていない。

【目的】

#25/.06 の JIZAI にて根管形成した湾曲根管模型に対し、GP の先端径ならびにテーパーを変化させたときの充填適合性を、断面充填率および根尖到達距離の観点から比較することで、#25/.06 の JIZAI にて形成した根管へのシングルポイント根管充填に最適な GP の条件を明らかにする。

【材料および方法】側枝 2 本を有する湾曲根管透明模型 (ホクシンエレクトロニクス) を用い、JIZAI (#013/.04→#020/.04→#025/.04)にて主根管を形成したのち、#025/.06 にて最終形成を行った。各ファイル交換時に精製水にてシリンジ洗浄を行い、さらに最終形成後にはシリンジ洗浄に加え SmartLite Pro EndoActivator（デンツプライシロナ）にて音波洗浄を行った。根管乾燥後、GP (株式会社モリタ) にキャナルシーラーBG multi (日本歯科薬品) を塗布したのちシングルポイント法にて根管充填を行った。GP は #20/.04、#20/.06、#25/.02、#25/.04、#25/.06、および#30/.02 を使用した（各 n=6)。シーラー硬化後、主根管における GP ならびにシーラーの根尖到達距離を計測した。また根尖から 1 mm および 5 mm にて模型を水平断したのち、実体顕微鏡にて写真撮影した。それらの画像に対し、Image J (NIH) を用いた解析を行い、1 mm 断面の主根管、側枝①、および側枝②、ならびに 5 mm 断面の主根管の充填率を評価した。

【結果】

1 mm 断面の主根管充填材占有率は、#20/.04 (99.96±0.11%) および#25/.04 (100±0.00%) が#20/.06 （93.60±5.10%)、#25/.06 (87.34±14.27%)、および#30/.02 （69.83±24.21%） よりも有意に高い値を示した。5 mm 断面の主根管充填材占有率は、#25/.04 が 99.27±1.80%と高い値を示したが、他条件は 60～78%であった (p<0.05)。側枝①および②の充填材占有率は概ね 80～97%であり、いずれの条件においても有意差を認めなかった。GP の根尖到達距離は、#25/.04 (0.13±0.33 mm) が、#20/.06 （1.58±2.08 mm)、#25/.02 (1.40±0.47 mm)、#25/.06 (2.15±0.23 mm)、および#30/.02 （2.53±1.22 mm） よりも有意に小さい値を示した。シーラーは#20/.04 および#25/.04 にて 0mm（作業長到達）に達し、#30/.02 (1.98±1.05) よりも有意に小さい値であった。

【考察】

JIZAI #025/.06 にて最終形成した湾曲根管模型においては、#25/.04 の GP ポイントを用いたシングルコーン法が、優れた根尖部充填剤占有率および根尖到達性を示したことから、JIZAI においては最終形成ファイルより一段小さいテーパーの GP を選択することが、根尖部の緊密な封鎖に有利である可能性が示された。一方、側枝の充填性は GP 規格に依存せず、シーラーの流動性に依存することが示唆された。

蛍光色素添加支台築造用コンポジットレジンの機械的性質と除去性の評価

[1]日本歯科大学生命歯学部歯科保存学講座，[2]日本歯科大学附属病院総合診療科１
[3]日本歯科大学生命歯学部接着歯科学講座
○村山文康[1]，小柳圭史[2]，柵木寿男[3]，長谷部裕子[2]，本野順士朗[2]，三枝慶祐[1,2]，北村和夫[2]，興地隆史[1]

Evaluation of the Mechanical Properties and Removability of an Experimental Fluorescent Core Build-up Resin Composite

[1]Department of Endodontics, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Tokyo
[2]Division of General Dentistry 1, The Nippon Dental University Hospital
[3]Department of Adhesive Dentistry, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Tokyo
○MURAYAMA Fumiyasu[1], KOYANAGI Katofumi[2], MASEKI Toshio[3], HASEBE Yuko[2], MOTONO Junshiro[2], SAIGUSA Keisuke[1,2], KITAMURA Kazuo[2], OKIJI Takashi[1]

【緒言】

既根管治療歯に再根管治療が必要となった際には，支台築造用コンポジットレジン（築造用レジン）を除去する必要がしばしば生じるが，これらは歯質と類似した色調を有するため，除去時に識別が困難となる場合がある．その結果，レジンの取り残しや歯質の過剰切削が生じ予後不良を招くリスクとなる．そこで，近年開発された蛍光モード搭載歯科用実体顕微鏡の活用により，築造用レジンへの蛍光性付与が，レジンの残存や歯質切削の抑制に有用となる可能性がある．

本研究では，蛍光色素の添加が築造用レジンの機械的性質に与える影響を評価するとともに，蛍光モード搭載歯科用実体顕微鏡を用いた築造用レジンの除去性について，レジン残存体積と歯質切削体積により検討した．

【材料と方法】

実験には，クリアフィル DC コアオートミックス ONE（クラレノリタケデンタル，以下：DC）と DC に蛍光色素を添加した試作築造用レジン（以下：FR）を使用した．

3 点曲げ試験；25 mm×2 mm×2 mm のステンレス製モールドにレジンを填入し光照射後，37℃に保った水槽中に 15 分間浸漬した後，バリを除去し，24 時間 37℃の水中に保管した．3 点曲げ試験は ISO4049 に準じて万能試験機(Autograph AG-1，島津）を用いて支点間距離 20.0 mm，クロスヘッドスピード 0.75 mm/min で行った．得られた応力ひずみ曲線から曲げ強さと弾性率を算出した（n＝8）．

除去試験；歯内療法用模型歯（A22AN-SC42，ニッシン）に歯髄腔と移行的になるよう窩洞形成後，築造用レジンを咬合面まで充填したのち，蛍光モード搭載歯科用実体顕微鏡（EXTARO 300，Carl Zeiss）観察下で，ロングネックダイヤモンドポイント（FH-8XL，FH-10XL，FH-12XL，日向和田精密製作所）を用い，DC は通常視野下，FR は蛍光モード下で切削除去した．試験は歯内療法臨床経験 5 年以上の歯科医師 3 名が行った．窩洞形成後および築造用レジン除去後にマイクロフォーカス X 線 CT 装置（ScanXmate-D100SS270，コムスキャンテクノ）で模型を撮影し，画像処理ソフト（TRI/3D-BON，ラトック）を用いて画像を重ね合わせ，築造用レジン残存体積と歯質切削体積を計測した（n＝6）．

統計解析；統計解析ソフト（SPSS Statistics ver.29，IBM Corp.）を使用し，マン・ホイットニーの U 検定を行った．有意水準は 5%とした．

【結果と考察】

曲げ強さ（MPa）の中央値は DC で 1.42×10^2，FR で 1.49×10^2 を示し，弾性率（GPa）は DC で 7.84，FR で 8.89 を示した．曲げ強さ，弾性率とも DC，FR の間に有意差は認められなかった．蛍光色素の添加による築造用レジンの曲げ強さと弾性率への影響は少ないことが示唆された．

また，築造用レジン残存体積（μm^3）の中央値は DC で 6.43×10^4，FR で 1.27×10^4 であり，FR で有意に減少した．一方，歯質切削体積（μm^3）の中央値は DC で 2.07×10^5，FR で 1.28×10^5 であり，有意差は認められなかったものの，減少傾向を認めた．築造用レジンの発光による視認性向上が，残存体積の減少および歯質切削体積の抑制に寄与したと考えられる．

【結論】

築造用レジンへの蛍光色素の添加は，曲げ強さおよび弾性率に影響を及ぼすことなく，切削除去時の築造用レジン残存体積を有意に減少させることが確認された．また，歯質切削体積についても減少傾向が認められた．本手法は，材料の機械的特性を維持したまま除去効率を向上させる有効な臨床的アプローチとなる可能性が示唆された．今後はヒト抜去歯における評価，歯質に対する接着強さの評価，および術者の手技の標準化等を行い，臨床応用の可能性を追究する必要がある．

Hyperdense-Nanobubble Ozone Water の 象牙質物理的特性への影響：ビッカース硬さによる検討

[1)]愛知学院大学歯学部歯内治療学講座　[2)]東京大学大学院工学系研究科システム創成学
○藤田　将典[1)]，安斎 聡[2)]，樋口　直也[1)]，諸冨　孝彦[1)]

Influence of Hyperdense-Nanobubble Ozone Water on the Physical Properties of Dentin: A Vickers Hardness Study

[1)]Department of Endodontics, School of Dentistry, Aichi Gakuin University
[2)] Department of Systems Innovation, Faculty of Engineering, The University of Tokyo
○FUJITA Masanori[1)], ANZAI Satoshi[2)], HIGUCHI Naoya[1)], MOROTOMI Takahiko[1)]

【目的】

根管洗浄は、機械的清掃が及ばない範囲の感染源の除去や、機械的清掃時に形成されたスミヤー層の除去に重要な操作である。しかし、根管洗浄剤として使用される次亜塩素酸ナトリウム溶液や EDTA 溶液は、象牙質の物理的強度を低下させることが知られている。近年、医療・工業分野等においてナノバブル水の有用性が報告されている。安斎らはオゾンを高濃度で維持できる Hyperdense-Nanobubble Ozone Water (Hd-NBOW)の作製に成功した。我々はこれまでに、オゾン濃度 5mg/l の Hd-NBOW が次亜塩素酸ナトリウム溶液と同等の殺菌効果と、3%EDTA 溶液と同等のスミヤー層除去効果を有することを報告した[1]。本研究では、Hd-NBOW の象牙質への影響をビッカース硬さ試験により検討を行った。

【材料と方法】

1. Hd-NBOW

Hd-NBOW 生成機 AZ-FB-03SW-10g/h2000A(安斎管鉄) より作製した。

バブル水の仕様　気体:オゾン オゾン濃度:5.0, 10±0.1mg/l (計測機器: DDZ-1000PE) 溶媒:生理食塩水(大塚製薬)

2.試料の作製

東京芝浦臓器株式会社より購入した牛歯を用いて試料を作製した。歯頸部および歯頸部から根尖方向 10mm の部位を Isomet(BUEHLER)にて歯軸と垂直方向に切断し、さらに歯軸方向に 4 分割した。その後ユニファストⅢ(GC) にて台付けを行った。象牙質表面を EcoMet30(BUEHLER)にて #120 の研磨紙にて形成した。形成面は＃2,000 まで研磨を行い、アルミナ研磨剤(Linde plc)およびフェルトバフを用いて鏡面研磨を行った。

3.ビッカース硬さ試験

試料を試験液 1ml に 1 分間浸漬した。試験液は生理食塩水、5%次亜塩素酸ナトリウム溶液(関東化学)、2%グルコン酸クロルヘキシジン(富士フイルム)、スメアクリーン(日本歯科薬品)、17%EDTA 溶液 (ペントロンジャパン)、5mg/l および 10mg/l Hd-NBOW を用いた。その後、生理食塩水 1ml に 1 分間浸漬を行った。試料はマイクロビッカース硬さ試験機(HM-010, Mitutoyo)を用いてビッカース硬さを測定した。得られた結果は統計ソフト SPSS　Statistics Ver.28.0 (IBM)を用いて一元配置分散分析後、Tukey の多重比較検定を行った。有意水準は 5%とした。

【結果】

次亜塩素酸ナトリウム溶液、スメアクリンおよび 17%EDTA は生理食塩水、グルコン酸クロルヘキシジンおよび 5mg/l および 10mg/l Hd-NBOW に比べてビッカース硬さが有意に低下した。生理食塩水、グルコン酸クロルヘキシジンおよび 5mg/l および 10mg/l Hd-NBOW 間に有意差は認められなかった。

【考察および結論】

Hd-NBOW は象牙質のビッカース硬さに影響を及ぼさないと考えられる。以上のことから、Hd-NBOW は殺菌効果とスミヤー層除去効果を有しつつ、象牙質の物理的強度を低下させない根管洗浄剤である可能性が示唆された。

【謝辞】

本研究実施にあたり多大なご助言、ご協力賜りました愛知学院大学歯学部歯科理工学講座朝倉正紀先生、鶴田昌三先生、林達秀先生に深く感謝申し上げます。

[参考文献]: [1] Masanori F et al. J Hard Tissue Biol 2026; 35: 155-164.

Ni-Ti ファイルの駆動様式が破折抵抗性に及ぼす影響

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
権 藝智, 戸井田 侑, 槌谷 賢太, 箕輪 文子, 三宅 凛, Islam Asiful, 友清 淳

Effect of Ni-Ti File Kinematics on Fracture Resistance

Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Faculty of Dental Medicine, Hokkaido University
Ieji Kon, Yu Toida, Kenta Tsuchiya, Fumiko Minowa, Rin Miyake, Islam Asiful, Atsushi Tomokiyo

【背景と目的】

形状記憶合金であるニッケルチタン（Ni-Ti）ファイルはその高柔軟性によって、湾曲根管を含む複雑な根管へのアプローチを可能とした。 また Ni-Ti ファイルは自動回転器具との併用により治療の効率が図られているが、未だ切削効率はステンレススチールファイルよりも低く、また破断強度の不足による破折リスクを抱えている。したがって、今後の根管治療の効率性および安定性を高めるためには、Ni-Ti ファイルの切削効率の向上と破断強度の向上が重要な課題である。Tri Auto ZX2 plus （TZX2; 株式会社モリタ）は、連続回転およびレシプロケーションを精密に制御できることに加え、360°を超えない範囲でのレシプロケーションを実施可能とした。そこで本研究は、テーパー、直径、および熱処理方法の異なる Ni-Ti ファイルに対して、TZX2 のレシプロケーションモードがそれらの破折に及ぼす影響を比較評価することとした。

【方法】

テーパー、直径、および熱処理方法の異なる ProTaper Ultimate 5 種類 (Slider、Shaper、F1、F2、F3; デンツプライシロナ) ならびに TruNatomy 4 種類 (Glider、Small、Prime、Medium; デンツプライシロナ) の合計 9 種類の Ni-Ti ファイルを対象とし、先端 3 mm を 50°湾曲させたモールドに挿入した。次に TZX2 の 2 種類の駆動モード（CW：500 rpm にて連続回転、150/60：500 rpm にて 150°→-90°のレシプロケーションを 4 回実施ののち 90°→-150°のレシプロケーションを 4 回実施の繰り返し）にて各々のファイルが破折に至るまで連続運転し、破折までの時間を計測し比較した。

【結果】

ProTaper Ultimate と TruNatomy のいずれにおいても、ファイルの直径が増加するにつれて破折までに要する時間は減少した。また、いずれの駆動方式においても Slider の破折時間が最も長かった。さらに Slider、Shaper、F1、および Small においては、CW と比較し 150/60 において破折時間が有意に長かった。

【考察】

150/60 の場合はファイルが 360°を超えない範囲でレシプロケーション運動することから、ファイルが根管壁にロックすることで生じるねじり疲労を低減しうるとされている。一方、本研究においては 150/60 の場合であっても全てのファイルが最終的には破折に至ったことから、150/60 であってもファイルの内湾と外湾が圧縮と伸長を繰り返す周期疲労が生じることが示唆された。一方で、9 種類中 4 種類のファイルにおいては CW と比較し 150/60 にて破折時間が長くなったことから、150/60 は CW よりも周期疲労を低減しうる可能性が示唆された。またファイルの直径が増加するにつれて破折に要する時間が減少したことから、ファイルの柔軟性が低下するとともに周期疲労が増加する可能性が示唆された。

【結論】

TZX2 の 150/60 駆動方式は、ProTaper Ultimate および TruNatomy において、CW 駆動方式よりも周期疲労による破折リスクを低減させる。

根尖部透過像を有する歯における臨床症状発現の予測因子

岡山大学学術研究院医歯薬学域歯科保存学分野
○神農泰生、井口晃太朗、日下一期、横山章人、高橋圭、山路公造、大原直子、鈴木茂樹

Predictors of the onset of clinical symptoms in teeth with periapical radiolucency

Department of Operative Dentistry,
Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences
○Yasuo SHINNO, Kotaro INOGUCHI, Ichigo KUSAKA, Akihito YOKOYAMA, Kei TAKAHASHI,
Kozo YAMAJI, Naoko OHARA, Shigeki SUZUKI

【目的】

根管充填の既往がある歯の根尖部透過像所見は歯科臨床で頻繁に遭遇する。しかし、そのすべてが活動性の疾患（根尖性歯周炎）を意味するわけではなく、無症候で長期安定する症例も少なくない。にもかかわらず、盲目的に再根管治療が行われる例は多く、介入を検討するケースでも術者の経験という不確定な要因によって判断されることがほとんどである。

また、根尖部透過像（X線情報）と一口に言っても、透過像の大きさや根管充填の状態、透過像の色調や位置など、いくつかの特徴がある。そこで本研究では、X線情報および患者の臨床情報から、将来の臨床症状発現の相関関係を検証し、客観的な治療介入基準を確立することを目的とした。

【材料と方法】

岡山大学病院において、2021年から2026年までの間に再根管治療を行った症例のうち、過去6ヶ月以上前にX線上で根尖透過像が認められた症例のうち、再根管治療時に臨床症状を認める症例を50例、認めない症例を50例の合計100例を対象とした。これらのサンプルより、臨床情報として年齢（10歳刻みに区分）、性別、上下部位、左右部位、歯種（前歯、小臼歯、大臼歯）を、過去のX線写真情報より透過像サイズ（3mm境界）、透過像位置（根尖部全周または偏在）、根管充填状態、透過像色調を評価項目とし、カイ二乗検定、フィッシャーの正確確率検定（有意水準5%）を用いて統計学的解析を行った。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2501-064)

【結果および考察】

臨床情報の解析の結果、年齢、性別、上下部位、左右部位、歯種のすべてにおいて、症状の有無との間に統計学的な有意差は認められなかった。ただし、対象症例の年齢・性別分布には当院の患者層特有の偏り（選択バイアス）が含まれている可能性があり、結果の一般化には留意が必要である。

X線写真情報の解析の結果、サイズおよび位置については、症状の有無との間に統計学的な有意差は認められなかった。一方で、根管充填の状態と症状の有無との間には、統計学的に有意な関連が認められた。特に、根管充填がアンダーである症例において高い症状発現率を認めた。

また、透過像の色調と症状の間にも有意な相関が認められた。特に黒色と分類された透過像は、10例中9例（90%）で症状を有しており、他のグループと比較して高い症状発現率を示した。

これらの結果は、透過像のサイズが過去の炎症の履歴を示すに過ぎず、透過性が現在の病態を反映していることを示唆している。そして病態は、根管内の感染状態に起因しており、感染要因として最も疑われるのが根管内の死腔である。このことが根管充填の状態との相関に影響していると考えられる。したがって、介入判断においては幾何学的な大きさ以上に、原因としての根管封鎖の不備と、その結果としての高度な透過性の組み合わせを評価することが有用であると示唆された。

【結論】

根尖透過像を有する症例への介入判断において、年齢、性別、部位、歯種、およびX線における透過像のサイズ、位置は臨床症状の直接的な予測因子とはならなかった。一方で、X線上での根管充填状態および透過像の透過性が臨床症状の予測および早期介入を判断する上での極めて有用な指標となり得ることが示唆された。