

昭和47年10月30日学術刊行物認可289号 令和2年12月31日発行（年6回発行）

ONLINE ISSN 2188-0808

# 日本歯科保存学雑誌

*THE JAPANESE JOURNAL OF  
CONSERVATIVE DENTISTRY*

日歯保存誌 Jpn J Conserv Dent



特定非営利活動法人

日本歯科保存学会

2020

<http://www.hozon.or.jp>

December Vol. 63 No. 6



J-STAGE <https://www.jstage.jst.go.jp/browse/shikahozon/-char/ja>

# シェードの無い世界へ ようこそ



オムニクロマ特設ページはこちら

<https://www.tokuyama-dental.co.jp/omnichroma/>



VITA16色が1本で。  
歯科充填用コンポジットレジン(光硬化型)

## オムニクロマ

標準医院価格 ¥3,900/1本 4g(2.2mL)  
管理医療機器(認証番号) 230AFBZX00049000

2020年  
11月24日  
新発売

株式会社 **トクヤマデンタル**

本社 〒110-0016 東京都台東区台東1-38-9

お問い合わせ・資料請求  
インフォメーションサービス

☎0120-54-1182

受付時間

9:00~12:00/13:00~17:00(土日祝日は除く)

Webにもいろいろ情報載っています!!

トクヤマデンタル

検索

# Vitapex<sup>®</sup>

## 黄色は強さ! Dr.イエロー!



イメージです。実際の製品は黄色のペーストです。

# ビタペックス<sup>®</sup>

## 水酸化カルシウム・ヨードホルムパスタ

高度管理医療機器 医療機器承認番号 16300BZZ00918000

■ **ビタペックス チップセット**  
<リフィルとチップが入ったセット>  
標準価格 3,700円

■ **ビタペックス リフィル**  
<補充用シリンジのみの単品>  
標準価格 3,000円

■ **ネオブルーチップ(S)**  
<チップのみの単品>  
一般医療機器  
医療機器届出番号13B1X00154000016  
標準価格 2,000円

■ **ミニシリンジ**  
<ミニシリンジのみの単品>  
一般医療機器  
医療機器届出番号13B1X00154000003  
標準価格 5,200円

### 黄色いヨードホルムが治療をバックアップ。

30.3% 水酸化カルシウム含有のビタペックスは、根端(尖)部歯周組織の治癒に好影響を与えるだけでなく、造影剤として配合されているヨードホルムが浸出液などの組織液に接するとヨウ素を遊離し、持続的な殺菌力を発揮します。バランスのとれた成分が多層的に効力を示す、頼れる製材です。

W **ダブルで働くDr.イエロー**



 **ネオ製薬工業株式会社**  
東京都渋谷区広尾3丁目1番3号

ホームページ <http://www.neo-dental.com/>  
お問い合わせ ☎ 0120-07-3768

# おかげさまで 5周年

初代「パナビア® EX」から37年。

5代目の「パナビア® V5」は、5周年を迎えました。

今までも、これからも、世界の歯科医療への貢献を  
目指してまいります。

管理医療機器  
歯科用セメントキット

## パナビア® V5

医療機器認証番号：226ABBZX00106000

製品の詳細についてはこちら



5th anniversary

●仕様及び外観は、製品改良のため予告無く変更することがありますので、予めご了承ください。●ご使用に際しましては添付文書を必ずお読みください。

製品・各種技術に関するお問い合わせ

クラレノリタケデンタル インフォメーションダイヤル

☎ 0120-330-922 月曜～金曜  
10:00～17:00

ホームページ

www.kuraraynoritake.jp

連絡先 **クラレノリタケデンタル株式会社**

〒100-0004 東京都千代田区大手町1-1-3 (大手センタービル)  
フリーダイヤル：0120-330-922

製造販売元 **クラレノリタケデンタル株式会社**

〒959-2653 新潟県胎内市倉敷町2-28

販売元 **株式会社モリタ**

〒564-8650 大阪府吹田市垂水町3-33-18 TEL. (06) 6380-2525  
〒110-8513 東京都台東区上野2-11-15 TEL. (03) 3834-6161  
お客様相談センター：0800-222-8020  
http://www.dental-plaza.com

LINE 公式アカウントはじめました

友達追加は  
こちらから!

新製品の情報

各製品の動画

セミナー情報

などをお届け!



# マイクロスコープ・CBCTを用いた 低侵襲な歯周治療の実践

## MINST/MIST成功のための ロードマップ

編著 河野寛二・三辺正人

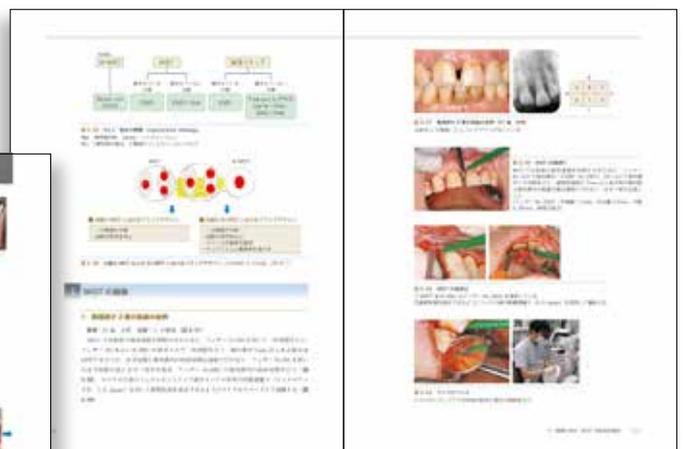
著 原井一雄・杉山貴志・両角俊哉・杉原俊太郎

MINSTにとって重要な低侵襲な非外科術式や、キュレット、歯根面形態などの必要な知識を具体的に解説。



MIST成功のためにリグロス、YAGレーザーを用いた具体的な術式やEMDを併用した治療症例などビジュアルにわかりやすく解説した一冊。

**体に負担の少ない低侵襲な歯周治療が  
注目を集めています！**



■ A4判変型 / 176頁 / カラー  
■ 定価 (本体13,000円+税)  
ISBN978-4-263-44598-3

医歯薬出版株式会社

〒113-8612 東京都文京区本駒込1-7-10 TEL.03-5395-7630 FAX.03-5395-7633 <https://www.ishiyaku.co.jp/>

## 承前啓後～未来へつなぐ歯科保存学～

日本歯科保存学会 2021 年度春季学術大会（第 154 回）大会長  
鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 先進治療科学専攻  
顎顔面機能再建学講座 歯科保存学分野  
西谷 佳浩



このたび、日本歯科保存学会 2021 年度春季学術大会（第 154 回）を開催させていただくことになりました。2021 年 6 月 10 日、11 日の日程で、会場は川商ホール（旧 鹿児島市民文化ホール）を予定しています。

新型コロナウイルスの影響により開催形式については予断を許さない状況ではありますが、鹿児島大学大学院医歯学総合研究科顎顔面再建学講座歯科保存学分野の教室員および関係者一同、皆様を鹿児島にてお迎えできますことを大変楽しみにしております。

歯を保存することを使命として、修復・歯内・歯周の 3 領域からなる特徴をもつ日本歯科保存学会は、すでに 65 年の歴史を有する学会であり、この間には多数の「歯の保存」スペシャリストが学会を構成すると同時に、次世代の人材育成も行われて継続的に国民の健康増進に貢献しながら発展しています。その伝統ある日本歯科保存学会の第 154 回目の学術大会を主管開催させていただくにあたり、大会のテーマを「承前啓後～未来へつなぐ歯科保存学～」といたしました。

本大会では、シンポジウム、教育講演、認定研修会、学会主導型プログラム、口頭およびポスター形式での一般発表を予定しております。

シンポジウムでは、日本歯科保存学会で将来活躍する次世代の人材育成にフォーカスした「歯科保存治療に携わる人材のキャリアプランニング」をテーマとして、岡山大学病院総合歯科 鳥井康弘先生に座長をお願いしました。また、鹿児島県は有人離島人口数が日本一であり、他県にはない規模での離島巡回歯科診療が毎年行われ、そのなかで保存治療も重要な役割を果たしています。この鹿児島県で実施される離島巡回歯科診療の現状および今後の展望にフォーカスしたシンポジウム「離島歯科巡回診療の現状と将来」について、鹿児島大学大学院咬合機能補綴学分野 南 弘之先生に座長を依頼しています。

さらに本学会では学会主導型プログラムを企画していただき、イタリアの Gianluca Plotino 教授に「The Ideal Instrument for Root Canal Preparation」のタイトルでご講演いただく予定です。

学会の開催にあたりましては、新型コロナウイルス感染症拡大予防策を徹底して講じます。皆様にもご協力いただきながら、学会の開催方法についても「未来へつなぐ」べく、新たな様式を提案することになりそうです。

大会開催地の鹿児島は、世界有数の活火山である桜島や指宿の砂蒸し風呂、霧島温泉、屋久島や奄美大島等、豊かな自然に囲まれています。特に桜島は市街地から約 4 キロメートルに位置し、市街地からは 24 時間運航している桜島フェリーを使うと約 15 分で渡ることができます。さらには幕末・明治時代を中心とした歴史の名所など、見どころが多数あります。また鹿児島は、黒毛和牛・豚・鶏の飼養数、鰻の養殖数、サツマイモ収穫量などが全国一位など農業も盛んで、周囲を海に囲まれ新鮮な魚介も豊富です。学会へお越しになられた際には、ぜひ鹿児島のグルメもお楽しみいただければと思います。

現地開催を予定しておりますが、新型コロナウイルス感染拡大の状況によって、開催形式が変更となる場合もございます。来年 6 月の鹿児島にて皆様とお目にかかれまことを、スタッフとともに楽しみにしております。多数のご参加を心よりお待ちしております。

日本歯科保存学会 2021 年度春季学術大会（第 154 回）  
《事前登録のご案内》

日本歯科保存学会 2021 年度春季学術大会（第 154 回）は、2021 年 6 月 10 日（木）・11 日（金）、鹿児島県・鹿児島市（担当校：鹿児島大学大学院医歯学総合研究科顎顔面再建学講座歯科保存学分野，大会長：西谷佳浩教授）において、下記のとおり開催することとなりました。事前参加登録についてご案内いたしますので、下記の要領により登録手続きをお願いいたします。多数の会員の皆様方のご参加をお願い申し上げます。  
※現地開催を予定しておりますが、新型コロナウイルス感染症拡大の状況によって開催形式および登録方法・期間等が変更となる場合もございます。

2020 年 12 月

特定非営利活動法人 日本歯科保存学会  
理事長 田上 順次

1. 会 期 2021 年 6 月 10 日（木）・11 日（金）

2. 会 場 川商ホール  
〒 890-0062 鹿児島市与次郎 2-3-1  
TEL：099-256-8111（代）

3. 参加登録

大会参加費は以下のとおりです。

事前登録（2020 年 12 月 14 日（月）正午～2021 年 5 月 7 日（金）15：00 までの登録） 10,000 円

当日登録 12,000 円

※本学術大会における事前登録は、すべて大会ホームページ上での手続きとなります。

<http://www.kokuhoken.jp/jscd154> にアクセスして、ご登録下さい。

4. 第 154 回学術大会に関するお問い合わせ先

日本歯科保存学会 2021 年度春季学術大会（第 154 回）大会事務局

〒 170-0003 東京都豊島区駒込 1-43-9

（一財）口腔保健協会コンベンション事業部内

TEL：03-3947-8761 FAX：03-3947-8873 E-mail：jscd154@kokuhoken.jp

詳細につきましては下記アドレスより、大会ホームページにアクセスして下さい。

<http://www.kokuhoken.jp/jscd154>

5. 交通・宿泊のご案内

交通・宿泊に関しましては、大会ホームページにおいて詳細を掲載します。

# 日本歯科保存学雑誌

第 63 巻第 6 号

令和 2 年 12 月

## 目 次

### ミニレビュー

接着性レジン象牙質接着耐久性改良法の探求と接着破壊ダイナミクスの解明  
.....保坂 啓一 (479)

### 原 著

Study on the Sealing Ability of a New High-penetration Resin Material for Enamel Cracks  
and Dentinal Tubules  
.....MIURA Tatsuki, YASUO Kenzo, IWATA Naohiro, YOSHIKAWA Kazushi and YAMAMOTO Kazuyo (483)

ユニバーサルアドヒージブのアクティブ処理およびエッチングモードが  
エナメル質接着強さおよび表面自由エネルギーに及ぼす影響  
.....今井亜理紗, 高見澤俊樹, 田村 友彦, 高宮 寛, 若松 賢吾  
辻本 暁正, 鈴木 総史, 鈴木 美穂, 宮崎 真至 (494)

高グルコース条件下における歯肉線維芽細胞のカルプロテクチン誘導性  
炎症関連因子の産生におけるスグチチンの抑制効果  
.....西川 泰史, 成石 浩司, 木戸 淳一, 湯本 浩通 (503)

ニッケルチタン製ロータリーファイルのテーパーが回転疲労耐性に与える影響  
.....福森 洋平, 中務 太郎, 牧 圭一郎, 木村 俊介  
海老原 新, 興地 隆史, 杉崎 順平 (512)

新規汚染除去材による処理が唾液汚染された CAD/CAM 冠用ハイブリッドレジンプロックの  
象牙質接着強さに及ぼす影響  
.....高橋 圭, 吉山 知宏, 横山 章人, 島田 康史, 吉山 昌宏 (519)

生物学的直接覆髄剤開発に向けた生理活性物質 RVX-208 の歯髄細胞における機能解析  
.....松本 昌大, 藤原 千春, 島袋 善夫, 山本 優, NANTAKEERATIPAT Teerachate  
北垣次郎太, 八木 寛子, 林 聡子, 岩山 智明, 柏木陽一郎  
三木 康史, 北村 正博, 沢田 啓吾, 木下 茉優, 村上 伸也 (527)

ユニバーサルアドヒージブへの光線照射の有無が自己接着性レジンセメントの  
歯質接着性に及ぼす影響  
.....石井 亮, 高見澤俊樹, 野尻 貴絵, 辻本 暁正  
甘利 佳之, 奥脇 岳人, 飯島 達也, 宮崎 真至 (536)

タタキ振動を付与した音波振動歯ブラシのプラーク除去効果および  
歯周組織に対する有用性について  
.....鴨井 久博, 吉峰 正彌, 三浦 悠, 濱田真理子 (545)

Influence of Light Irradiation Conditions on the Tensile Bond Strength of  
Resin Composite Bonding Materials to Dentin  
.....OUCHI Satoko, IWATA Naohiro, LIU Haitao, XIE Zhouqiao, WANG Xiangyu  
MOROTO Hidetoshi, ISHIDA Shunsuke, KOMASA Reiko, YASUO Kenzo  
TANIMOTO Hiroaki, YOSHIKAWA Kazushi and YAMAMOTO Kazuyo (554)

### 症例報告

インプラント周囲炎患者に対し Er : YAG レーザーを併用し外科的治療を行った症例  
.....安田 忠司, 山本 敦彦, 辰巳 順一 (563)

63 巻総目次..... (570)

会務報告..... (576)

## 発 行

特定非営利活動法人 日本歯科保存学会  
〒170-0003 東京都豊島区駒込 1-43-9 (一財)口腔保健協会内

# THE JAPANESE JOURNAL OF CONSERVATIVE DENTISTRY

Vol. 63, No. 6

DECEMBER 2020

## CONTENTS

### Mini Review

- Improving Resin-dentin Bond Durability and a Novel Ultra-high-speed Videography  
.....HOSAKA Keiichi ( 479 )

### Original Articles

- Study on the Sealing Ability of a New High-penetration Resin Material for Enamel Cracks  
and Dentinal Tubules  
.....MIURA Tatsuki, YASUO Kenzo, IWATA Naohiro,  
YOSHIKAWA Kazushi and YAMAMOTO Kazuyo ( 483 )
- Influence of Active Application and Etching Mode on Enamel Bond Strength and  
Surface Free Energy of a Universal Adhesive  
.....IMAI Arisa, TAKAMIZAWA Toshiki, TAMURA Tomohiko, TAKAMIYA Hiroshi,  
WAKAMATSU Kengo, TSUJIMOTO Akimasa, SUZUKI Soshi,  
SUZUKI Miho and MIYAZAKI Masashi ( 494 )
- Inhibitory Effects of Sudachitin on the Production of Inflammation-related Molecules in  
Human Gingival Fibroblasts Cultured under High Glucose Conditions  
.....NISHIKAWA Yasufumi, NARUIHI Koji, KIDO Jun-ichi and YUMOTO Hiromichi ( 503 )
- Effect of Taper of Nickel-titanium Rotary Instruments on Cyclic Fatigue Resistance in a Dynamic Model  
.....FUKUMORI Yohei, NAKATSUKASA Taro, MAKI Keiichiro,  
KIMURA Shunsuke, EBIHARA Arata, OKIJI Takashi and SUGIZAKI Jumpei ( 512 )
- Effect of New Decontamination Material on the Dentin Bond Strength of  
Saliva-contaminated Hybrid Resin Block for CAD/CAM Crowns  
.....TAKAHASHI Kei, YOSHIYAMA Tomohiro, YOKOYAMA Akihito,  
SHIMADA Yasushi and YOSHIYAMA Masahiro ( 519 )
- The Functional Analysis of RVX-208 in Human Dental Pulp Cells: An Initiative for the  
Application of a Bioactive Compound, RV-208, on Direct Pulp Capping  
.....MATSUMOTO Masahiro, FUJIHARA Chiharu, SHIMABUKURO Yoshio, YAMAMOTO Yu,  
NANTAKEERATIPAT Teerachate, KITAGAKI Jirouta, YAGI Hiroko, HAYASHI Satoko,  
IWAYAMA Tomoaki, KASHIWAGI Yoichiro, MIKI Koji, KITAMURA Masahiro,  
SAWADA Keigo, KINOSHITA Mayu and MURAKAMI Shinya ( 527 )
- Influence of Light Irradiation of Universal Adhesives on the Bonding Effectiveness of  
Self-adhesive Resin Cements  
.....ISHII Ryo, TAKAMIZAWA Toshiki, NOJIRI Kie, TSUJIMOTO Akimasa, AMARI Yoshiyuki,  
OKUWAKI Taketo, IJIMA Tatsuya and MIYAZAKI Masashi ( 536 )
- The Efficacy of Dental Plaque Removal and Usefulness for Periodontal Tissue of a  
Sonic Toothbrush Equipped with Tapping Amplitude  
.....KAMOI Hisahiro, YOSHIMINE Masaya, MIURA Haruka and HAMADA Mariko ( 545 )
- Influence of Light Irradiation Conditions on the Tensile Bond Strength of  
Resin Composite Bonding Materials to Dentin  
.....OUCHI Satoko, IWATA Naohiro, LIU Haitao, XIE Zhouqiao, WANG Xiangyu,  
MOROTO Hidetoshi, ISHIDA Shunsuke, KOMASA Reiko, YASUO Kenzo,  
TANIMOTO Hiroaki, YOSHIKAWA Kazushi and YAMAMOTO Kazuyo ( 554 )
- ### Case Report
- Surgical Treatment of Peri-implantitis by Using Er: YAG Laser: A Case Report  
YASUDA Tadashi, YAMAMOTO Atsuhiko and TATSUMI Junichi ( 563 )

Published  
by  
THE JAPANESE SOCIETY OF CONSERVATIVE DENTISTRY (JSCD)  
c/o Oral Health Association of Japan (Kōkūhoken kyōkai)  
1-43-9, Komagome, Toshima-ku, Tokyo 170-0003  
Japan

## 接着性レジンの象牙質接着耐久性改良法の探求と 接着破壊ダイナミクスの解明

保坂 啓一

東京医科歯科大学 (TMDU) 大学院医歯学総合研究科 医歯学系専攻 口腔機能再構築学講座 う蝕制御学分野

### Improving Resin-dentin Bond Durability and a Novel Ultra-high-speed Videography

HOSAKA Keiichi

Department of Cariology and Operative Dentistry, Division of Oral Health Science,  
Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)

キーワード：象牙質接着耐久性，超高速イメージング，微小引張接着試験，セルフエッチングシステム，コンポジットレジン

#### はじめに

世界的規模における超高齢化の潮流において，日本では100歳以上の人口が11万人を突破し，8020達成率も50%を超えた．そのようななか，現在，根面う蝕・二次う蝕・トゥースウェアなどへの対応が，歯科保存学・接着修復学における課題となっている．人生100年時代の口腔健康を増進させるため，徹底したう蝕予防とう蝕管理，そして治療介入の際には，低侵襲接着技法を用いたアプローチがますます重要になっている<sup>1)</sup>．近年の目覚ましい接着歯学の発展に伴い，直接法コンポジットレジン修復は，厚生労働省の診療別歯科医療統計でも，この10年間で治療件数が約20%増え，研究者のみならず臨床家にとっても注目されている<sup>2,3)</sup>．

#### 接着性レジンの象牙質接着耐久性改良法の探求

接着修復成功の条件はいうまでもなく，良好な歯質接着性および歯質接着耐久性の獲得である．エナメル質は

リン酸エッチングを行うことにより良好な接着が得られるが，より有機質・水分を多く含む象牙質への接着はこれまで難しく，接着耐久性が課題とされてきた．

操作ステップを簡略化した接着システムでは，欧米を中心に採用されていたウェットボンディングシステムにおいて，リン酸エッチング後の水洗による水分のコントロールが難しく，界面剥離と残留脱灰象牙質が生じるといった接着劣化につながる問題があった．そこで，著者らは水洗後にエタノールを塗布し水分と置換するというステップが，コラーゲン細線維間への疎水性のボンドの浸透を促進し，良好な樹脂含浸層を作り接着耐久性に寄与することを見いだした<sup>4)</sup>．現在，世界中で多くの臨床家に“エタノールウェットボンディングテクニック”として応用されている．

一方，マイルドな酸性である機能性モノマーによる脱灰能をもつセルフエッチングシステムは現在，日本のみならず世界のゴールドスタンダードとなっている．しかしながら，切削象牙質上に覆われるスマイヤ層が完全に除去されないことによって形成されるHybridized smear layerが，接着劣化の一因となる可能性が指摘さ

れている。そこで著者らは、NaOCl水溶液によるスマヤー層の改質（有機成分の溶解除去）がスマヤー層中の有機成分を溶解除去することがHybridized smear layer形成を防ぎ、接着向上に寄与することを見いだした<sup>5)</sup>。さらに、レジンモノマーの浸透性が向上すること、ミネラル密度上昇による化学的接着が向上すること、そして接着阻害因子の水分量が減少するという3つの利点が考えられ、直接法でも間接法でも象牙質接着耐久性が向上する。さらに、脱灰の影響を受け有機質/無機質比率が上昇したう蝕影響象牙質に対してその効果はより高く<sup>6)</sup>、Smear Layer Deproteinizing Pretreatment (SLDP) と名付けてその臨床応用を行っている。

SLDPは、次亜塩素酸ナトリウム液と有機質との反応による酸化物の発生によってボンドの重合阻害を招くことから、スルフィン酸塩などを含む還元剤処理が必要である。最新の知見では、還元剤処理自体が光重合型ボンドの重合を促進させる効果も見いだされ、還元剤処理後にボンドを塗布するワンステップセルフエッチングシステム（ユニバーサルタイプを含む）では、これらの処理の効果がより高くなる<sup>7)</sup>。現在、次亜塩素酸ナトリウム水溶液の代用として、より安全性の高い次亜塩素酸水や植物由来のタンパク質分解酵素の応用の検討を行っている<sup>8,9)</sup>。

### 超高速イメージングを応用した 接着破壊ダイナミクスの解明

接着性能・接着耐久性の実験的評価を行うためには、Sanoらによって開発、1994年に発表された微小引張接着試験<sup>10)</sup>が、その汎用性と信頼性の点から今なお多くの研究で採用されている。接着試験では、測定した接着強さのみならず、試料の破壊部位に関する情報も重要であり、接着強さが同じだとしても違う破壊形態を示すこともある<sup>11)</sup>。破壊面の形態分析は、接着試験後、光学顕微鏡または走査電子顕微鏡（SEM）を使用して破断した試験片を観察することによって行われる<sup>12)</sup>。セラミックスのような均質な材料であれば、亀裂の起源を示す兆候が現れ、破壊の起点と亀裂伝播の方向を決定するための破面法が利用可能であるが<sup>13)</sup>、複合材料であるコンポジットレジンに適用することは困難である。したがって、界面破壊の性質と複雑さを理解するため、破壊の瞬間のダイナミクスの検討が必要である。

これまで、接着試験中の試料の破壊観察を行った先行研究では、標準的なビデオカメラを用いて撮影速度毎秒25フレーム（fps, frames per second）で、象牙質-レジン接着界面のせん断応力負荷中の破壊の様子<sup>14)</sup>を観察している。同様にわれわれも、標準的なビデオカメラを用

いて微小引張接着試験中の接着性レジンを用いた象牙質-レジン接着破壊様相の観察を試みたが、残念ながら破壊現象を観察することはできなかった。

そこで新しい試みとして、従来カメラの撮影速度を超えるハイスピードカメラを使用することとした。Focal Encyclopedia of Photography<sup>15)</sup>によると、高速イメージングは撮影速度によって、4つのカテゴリ、すなわち1) 50~500 fpsの「high speed (HS)」, 2) 500~10,000 fpsの「very high speed (VHS)」, 3) 10,000~10,000,000 fpsの「Ultra high speed (UHS)」, および4) 1000万fpsを超える「Super high speed (SHS)」に区別される。

われわれの研究では、最高撮影速度1,000,000 fpsのUHSカメラを使用し、試験中に発生した破壊の瞬間を、撮影速度299,166 fps、256×112ピクセルの解像度で分析し、亀裂の起点を特定し、その伝播の観察を試みた。撮影速度に加えて写真の解像度は、イメージングにとって非常に重要な要素である。一般的に、ビデオカメラは撮影速度を上げると解像度が下がる。したがって、単純にカメラの最大撮影速度を使用すればよいというわけではない。また、適切な照明条件も本イメージングには重要である。工学分野で一般的に使用される連続光であるメタルハライドランプは、熱を発生し歯の硬組織標本には熱損傷を起こす危険性があるため、本研究では、シャッターと同期したパルスダイオードレーザーをパルス光源として使用した（図1）。その結果、超高速接着破壊現象である亀裂の発生・亀裂進展を、UHSカメラを用いたUHSビデオグラフィーにより可視化することに成功した（図2）<sup>16)</sup>。亀裂の進展速度は時速1,500 kmを超えていた。使用した接着システムは、クリアフィルメガボンド（クラレノリタケデンタル）で、業者指示どおりのセルフエッチング（SE）モード、エタノールウェットボンディングテクニックを用いた（ER）モードの2種類の接着モードで使用した。微小引張接着試験は、小型卓上試験機EZ Test（島津製作所）を用いてクロスヘッドスピード1 mm/minで行った。

同研究では、UHSビデオグラフィーとSEMによって決定された破断形態分析による違いについての検証も行った。SEモードでは、UHSビデオグラフィーとSEM破壊形態分析の間には有意差が認められなかったが、ERモードでは、UHSビデオグラフィーとSEM破断面観察結果は一部異なる結果となった。これは、SEモードにおける酸性モノマーによるマイルドな脱灰効果と比較し、ERモードにおけるリン酸による深い脱灰によって象牙質表面の凝集力が低下し、破壊が象牙質とボンド層との接着界面・樹脂含浸層直下など複雑な様相で発生したため、低解像度のUHSビデオグラフィーがSEM破断



図1 微小引張接着試験機と超高速(UHS)ビデオグラフィのセッティング

超高速カメラは Phantom V2512 (Research Vision Inc. US), 照明装置はメタルハライドランプだが, 歯の硬組織・高分子材料を使った試料のイメージングでは, 熱損傷を避けるため, 文献16では Diode pulse laser (Cavilux HF, Cavitax Ltd, Finland) を同期させて使用した。

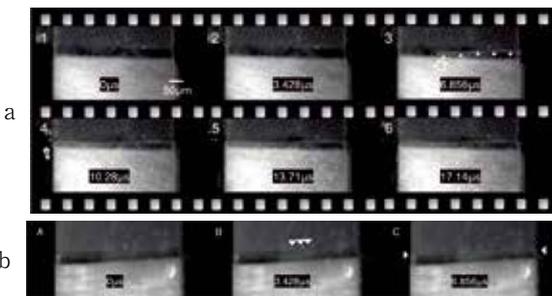


図2 クリアフィルムメガボンドを使用して作製したコンポジットレジン-象牙質接着界面における破壊の瞬間のイメージング

- a : ボンド層内を亀裂が進展している。  
b : コンポジットレジンとボンド層の界面中央付近での破壊が生じ, 亀裂が左右両側へ進展したのがわかる<sup>16)</sup>。

面観察ほど正確に破壊位置を特定できなかったこと, および観察方向に起因すると考えられる。超高速イメージングの分野は急速に進化しているため, 今後, より高速度・高解像度の撮影技法が開発されると期待される。観察方向については, 複数台の UHS カメラの使用が効果的かもしれない。

SE モードと ER モードとの間には, 微小引張接着強さと同様, UHS ビデオグラフィと SEM による破壊面形態において有意差が認められた。これらの結果は, 接着材塗布モードが接着性能と破壊様相に明白な影響を与えることを示唆しており, 接着モードによる接着性能・接着耐久性への影響を一般化するため, さらなる研究が必要である。

UHS ビデオグラフィは SEM 破壊形態分析と合わせ

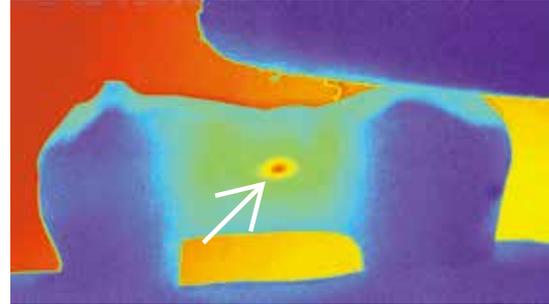


図3 コンポジットレジンダイレクトブリッジ構造の支台歯の片側に荷重を行った瞬間の光弾性の UHS イメージング

ヒト抜去小白歯(左側)と大白歯(右側)を石膏に植立後, エナメルリン酸エッチング, クリアフィルムメガボンド2で接着処理を行いフロアブルコンポジットレジンで連結したダイレクトブリッジモデル大白歯支台側に荷重した瞬間を奥側からの透過光条件で UHS イメージングすると (10,000 fps), 接着界面ではなく, 連結部中央に応力ひずみ(白矢印)が集中していることがわかった。

ることで破壊ダイナミクスの解明に寄与し, 新しい接着材料開発・接着技法の改良につながることを期待される。実際, SE モードで作製した試料における接着破壊がボンド層での破壊が多いということは視覚的に理解しやすく, 重合性の改善, ボンド層とコンポジットレジンとの界面における共重合性の改善が行われ, より接着耐久性の高い接着システムの開発へとつながった<sup>17)</sup>。

### 超高速イメージングの応用と今後の展開

直接法コンポジットレジン修復は, 臨床的有效性と経済的効率性の観点から適用を広げ, さまざまな症例に多く用いられている。特に少数歯欠損における, ファイバーの補強を行わないシンプル術式によるダイレクトブリッジ修復<sup>18)</sup>は, 最新の臨床研究では3年予後成功率が80%を超えることが報告され<sup>19)</sup>, 低侵襲治療として今後ますます期待されるだろう。

そこで, 超高速イメージングと光弾性分析を組み合わせることにより, ダイレクトブリッジ構造内部の応力集中を可視化した(図3)。欠損隣接歯が歯槽骨で十分に支えられている場合, 欠損側エナメル質への信頼性の高い接着システムを使用すると, 内部応力がエナメル質の接着界面ではなくポンティックの中央に集中することがわかり, ポンティック構造を検討することが临床上非常に重要であることが示唆された。この知見は, 破壊靱性の高いコンポジットレジンを用いたダイレクトブリッジへの応用<sup>20)</sup>につながり, さらに高い臨床予後につながる可能性を秘めている。超高速

度イメージング手法は、歯の破折・セラミックスの破折など、修復学領域のみならず他領域への応用も期待されるイノベーションである。

### おわりに

今後、得られた研究成果を発展させ、健全歯質を最大限に保存する直接法接着修復の応用可能性を科学的に裏付け、超高齢社会における患者の歯の延命、ひいては口腔健康維持と増進にさらに貢献していきたい。

### 謝 辞

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科う蝕制御学分野 田上順次教授、中島正俊講師、米国オーガスタ大学名誉教授 Dr. David Pashely の長年にわたる研究ご指導に対しまして、深く感謝の意を表します。

### 文 献

- 1) Federation FDIWD. FDI policy statement on Minimal Intervention Dentistry (MID) for managing dental caries: Adopted by the General Assembly; September 2016, Poznan, Poland. *Int Dent J* 2017; 67: 6-7.
- 2) Chafaie A, Portier R. Anterior fiber-reinforced composite resin bridge: a case report. *Pediatr Dent* 2004; 26: 530-534.
- 3) Wirsching E. Contemporary options for restoration of anterior teeth with composite. *Quintessence Int* 2015; 46: 457-463.
- 4) Hosaka K, Nishitani Y, Tagami J, Yoshiyama M, Brackett WW, Agee KA, Tay FR, Pashley DH. Durability of resin-dentin bonds to water- vs. ethanol-saturated dentin. *J Dent Res* 2009; 88: 146-151.
- 5) Hosaka K, Thanatvarakorn O, Kunawarote S, Takahashi M, Foxton RM, Tagami J, Nakajima M. Smear layer-deproteinization: Improving the adhesion of self-etch adhesive systems to caries-affected dentin. *Current Oral Health Reports* 2018; 5: 168-177.
- 6) 中島正俊, 谷口 玄, Sitthikorn K, 保坂啓一, 高橋真広, 岩本奈々子, 岸川隆蔵, 田上順次. う蝕象牙質に対する2ステップ・セルフエッチ接着システムの接着性能の改良. *日歯保存誌* 2008; 51: 396-402.
- 7) Hasegawa M, Tichy A, Hosaka K, Kuno Y, Ikeda M, Nozaki K, Chiba A, Nakajima M, Tagami J. Degree of conversion and dentin bond strengths of light cure multi-mode adhesives pretreated or mixed sulfinate agents. *Dent Mater J* (in press).
- 8) Kusumasari C, Abdou A, Tichy A, Hatayama T, Hosaka K, Foxton RM, Wada T, Sumi Y, Nakajima M, Tagami J. Effect of smear layer deproteinization with chemo-mechanical caries removal agents on sealing performances of self-etch adhesives. *J Dent* 2020; 94: 103300.
- 9) Paing SY, Tichy A, Hosaka K, Nagano D, Nakajima M, Tagami J. Effect of smear layer deproteinization with HOCl solution on the dentin bonding of conventional and resin-modified glass-ionomer cements. *Eur J Oral Sci* 2020; 128: 255-262.
- 10) Sano H, Ciucchi B, Matthews WG, Pashley DH. Tensile properties of mineralized and demineralized human and bovine dentin. *J Dent Res* 1994; 73: 1205-1211.
- 11) Armstrong SR, Boyer DB, Keller JC. Microtensile bond strength testing and failure analysis of two dentin adhesives. *Dent Mater* 1998; 14: 44-50.
- 12) Armstrong S, Geraldini S, Maia R, Raposo LH, Soares CJ, Yamagawa J. Adhesion to tooth structure: a critical review of "micro" bond strength test methods. *Dent Mater* 2010; 26: e50-62.
- 13) Quinn GD. NIST Recommended Practice Guide Fractography of Ceramics and Glasses. Report. 2016 May 2016. Contract No. 960-16.
- 14) Griffiths BM, Watson TF, Pagliari DE, Pilecki P, Sherriff M. Video rate confocal microscopic imaging of dentin/adhesive interfacial failure under load. *Am J Dent* 2000; 13: 271-279.
- 15) Fuller PW. High-Speed Cinematography. Peres MR. Focal encyclopedia of photography. 4th ed. Woburn: Focal Press; 2007. 539.
- 16) Hosaka K, Tichy A, Ikeda M, Nakagawa K, Sadr A, Tagami J, Takahashi M, Sato K, Nishitani Y, Klein-Junior CA, Pashley DH, Nakajima M. Ultra-high-speed videography of resin-dentin interface failure dynamics under tensile load. *Dent Mater* 2019; 35: e153-161.
- 17) Sato K, Hosaka K, Takahashi M, Ikeda M, Tian F, Komada W, Nakajima M, Foxton R, Nishitani Y, Pashley DH, Tagami J. Dentin bonding durability of two-step self-etch adhesives with improved of degree of conversion of adhesive resins. *J Adhes Dent* 2017; 19: 31-37.
- 18) 保坂啓一, 田代浩史, 高橋真広, 岸川隆蔵, 中島正俊, 大槻昌幸, 田上順次. 大白歯部1歯欠損症例にフロアブルコンポジットレジンのみを用いた単純化した術式によりダイレクトブリッジ修復を行った1症例. *日歯保存誌* 2019; 62: 47-53.
- 19) 三木仁志, 田代浩史, 高垣智博, 畑山貴志, 保坂啓一, 田上順次. コンポジットレジ直接修復による欠損部回復の生存解析. 第39回接着歯学会学術大会プログラム・抄録集. 2020; 38: 124, PA-35.
- 20) Hosaka K, Tichy A, Hasegawa Y, Motoyama Y, Kanazawa M, Tagami J, Nakajima M. Replacing mandibular central incisors with a direct resin-bonded fixed dental prosthesis by using a bilayering composite resin injection technique with a digital workflow: A dental technique. *J Prosthet Dent* 2020.(in press)

## Study on the Sealing Ability of a New High-penetration Resin Material for Enamel Cracks and Dentinal Tubules

MIURA Tatsuki, YASUO Kenzo, IWATA Naohiro,  
YOSHIKAWA Kazushi and YAMAMOTO Kazuyo

Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University

### Abstract

**Purpose:** In line with the increasing number of remaining teeth per person, the incidence of noncariogenic hard tissue diseases other than dental caries and periodontal disease has been increasing. Among noncariogenic diseases, micro cracks of enamel (enamel cracks) may be a cause of hypersensitivity with no substance defect. Furthermore, exposed dentin is a cause of dentin hypersensitivity to transient cold water and abrasion pain. A new high-penetration resin material for tooth substrates having high flowability, hydrophilicity and wettability also has high penetrability for enamel cracks and dentinal tubules. Considering the sealing of enamel cracks and dentinal tubules with resin-based dentin desensitizers, we measured the permeability inhibition rate using a tooth model of hypersensitivity.

**Methods:** Enamel crack specimens and dentin disc specimens were prepared using healthy human teeth with no dental caries. Using a device prepared following the method reported by Pashley et al., the specimen was connected to the device and the inner pressure was set at 25 mmHg. The materials used in the experiment were the new high-penetration resin material for tooth substrates (KE, Kuraray Noritake Dental) and resin-based desensitizers G-Premio BOND (GP; GC) and Scotchbond Universal Adhesive (SU; 3M ESPE). After application of each desensitizer, the enamel crack and dentinal tubule permeability inhibition rate was measured. The surface and longitudinal cross-sectional surface in the enamel crack specimens and dentin disc specimens were observed under SEM, and the penetration depth of resin in enamel cracks was measured.

**Results:** The permeability inhibition rate of the enamel cracks in the KE, GP and SU groups was 96.0, 96.3 and 94.0%, respectively. The permeability inhibition rate of the dentinal tubules in the KE, GP and SU groups was 90.0, 94.2 and 93.7%, respectively. There was no significant difference in the permeability inhibition rate of the enamel cracks and dentinal tubules between the KE, GP and SU groups, and the permeability inhibition rates of all groups were high. SEM images showed that the superficial layer of the enamel cracks and dentin was covered with a resin coating in all the groups, and that the longitudinal cross-sectional surface of the enamel cracks was sealed with resin in all the groups. The penetration depth of resin in the enamel cracks was significantly higher in the KE group than in the GP and SU groups. On the longitudinal cross-sectional surface of the KE group, we observed long resin tags which penetrated into the dentinal tubules. However, we did not observe any resin tags penetrating the dentinal tubules in the GP group, and observed resin tags that penetrated slightly into the dentinal tubules in the SU group.

**Conclusion:** It is considered that the new high-penetration resin material for tooth substrates delivered a better sealing ability than conventional resin-based desensitizers for enamel cracks and dentinal tubules.

**Key words:** sealing ability, dentin hypersensitivity model, high-penetration resin material

---

Corresponding author: Dr. YASUO, Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University, 8-1, Kuzuha-hanazono-cho, Hirakata, Osaka 573-1121, Japan

TEL: +81-72-864-3077, FAX: +81-72-864-3177, E-mail: yasuo-k@cc.osaka-dent.ac.jp

Received for Publication: July 31, 2020/Accepted for Publication: August 26, 2020

DOI: 10.11471/shikahozon.63.483

## Introduction

With the graying of society in Japan, the number of remaining teeth per person is increasing thanks to activities such as the 8020 movement and advances in dental treatment<sup>1)</sup>. As a result, however, the incidence of noncariogenic hard tissue diseases, which are different from dental caries and periodontal diseases, is increasing. Noncariogenic hard tissue diseases include tooth wear, tooth fracture or cracking, hypoplasia, malformation, and abnormal number of teeth<sup>2)</sup>. Among such diseases, two phenomena that can cause hypersensitivity are microcracks of enamel (enamel cracks) with no substance defect, and dentin hypersensitivity, which presents with exposure of the dentin. In addition, various factors such as bruxism, clenching, changes in the environment of the oral cavity due to eating and drinking, and decrease in salivary secretion are thought to affect the expansion of enamel cracks and exposure of dentin with substance defect<sup>3)</sup>. It has been reported that the incidence of enamel cracks in healthy teeth increases with age: 60% of those in their teens, 68% of those in their twenties, 90% of those in their thirties<sup>4)</sup>, and more than 95% of those in their forties and older<sup>5)</sup>. Enamel cracks are assumed to cause pigment penetration via the cracks, cosmetic disturbance of the teeth due to secondary caries, expression of dentin hypersensitivity-like pain, and disturbance of procedures such as whitening<sup>6,7)</sup>. Enamel cracks may also reach the dentin, allowing stimulation to reach the dental pulp via dentinal tubules<sup>8)</sup>.

The hydrodynamic theory, which claims that pain occurs as movement of the inner fluid in dentinal tubules stimulates the free nerve endings inside the dental pulp under an external stimulation, which is transmitted through the dentinal tubule openings on the dentin surface, is considered the most likely mechanism of pain expression in dentin hypersensitivity<sup>9)</sup>. Based on the hydrodynamic mechanism similar to dentin hypersensitivity, in hypersensitivity which occurs in concurrence with enamel cracks, it is assumed that pain occurs as stimulation reaches the dentin through the enamel cracks<sup>3)</sup>. Methods of treating dentin hypersensitivity include conservative treatments such as application of medicament, iontophoresis, laser treatment, and coverage with adhesive materials. Similar treatment

methods and external crown repair are also used as methods for treating enamel cracks. The application of medicament is often considered the first choice in the treatment of dentin hypersensitivity due to its simplicity and immediate effectiveness. The action mechanism of desensitizers involves sealing of the enamel cracks and dentinal tubules on the exposed dentin surface, preventing stimulation from reaching the dental pulp and suppressing the excitation of dental pulp cells. It is also considered to promote calcium deposition to, and encourage active sealing of, enamel cracks and dentinal tubules<sup>10)</sup>. There are many types of desensitization, including solidification of tissue fluid<sup>11)</sup>, crystallization of mineral salt<sup>12,13)</sup>, and sealing with resin-based materials<sup>14)</sup>, depending on their action mechanism. However, it has been reported that the cure rate for conservative treatments is only about 60 to 70%<sup>15)</sup>, leaving the possibility of symptom recurrence. In comparison, there is no established treatment for enamel cracks. Noninvasive treatment is needed as the concept of minimal intervention (MI) has become popular. Furusawa, et al.<sup>16)</sup> reported the effectiveness of sealing enamel cracks with dentin desensitizers (desensitizers).

In recent years, coating and sealing of the dentin surface with resin-based desensitizers have attracted attention, as indicated by the introduction of insurance coverage for coating treatment using dental sealing/coating materials to seal the dentinal tubules on the surface of vital abutment teeth<sup>17)</sup>. A prototype new high-penetration resin material for tooth substrates (new high-penetration resin material), KEC-100, was newly developed by Kuraray Noritake Dental Inc. for the purpose of sealing microcracks in dentin. Its characteristics include the incorporation of hydrophilic multi-functional amide-type monomer with high hydrophilicity and affinity to dentin, no need for air drying as it contains no solvents such as water and organic solvents, low viscosity, and high wettability to dentin. In this study, we examined the ability of this new high-penetration resin material to seal enamel cracks and dentinal tubules by preparing a device that can apply a pressure of 25 mmHg, which is equivalent to the inner pressure of human dental pulp, in accordance with a report by Pashley, et al.<sup>18)</sup>, and used the device and a dentin hypersensitivity model to measure the permeability inhibition rate.

**Table 1** Materials used in this study

Materials	Composition	Application protocol	Manufacturer	Lot No.
KEC-100 (KE)	10-MDP, Bis-GMA, hydrophilic amide monomer, photo initiators	1. Apply bond (waiting time 10 s) 2. No dry 3. Light cure for 10 s	Kuraray Noritake Dental	170804 (experimental)
G-Premio BOND (GP)	10-MDP, 4-META, methacrylate acid ester, MDTP, distilled water, acetone, photo initiators, silica filler	1. Apply adhesive (waiting time 0 s) 2. Dry with max air pressure for 5 s 3. Light cure for 10 s	GC	1710033
Scotchbond Universal Adhesive (SU)	10-MDP, dimethacrylate resins, a-methacrylate-modified polyalkenoic acid copolymer, HEMA, filler, ethanol, water, photo initiators, silane	1. Apply adhesive (waiting time 20 s) 2. Dry with gentle air flow for 5 s 3. Light cure for 10 s	3M ESPE	71207A

## Materials and Methods

Table 1 shows the materials used in the experiments and how they were applied. As resin-based desensitizers, we used G-Premio BOND (GP; GC, Tokyo, Japan) and Scotchbond Universal Adhesive (SU; 3M ESPE, Minnesota, USA). As the prototype new high-penetration resin material for tooth substrates, we used KEC-100(experimental, KE; Kuraray Noritake Dental, Tokyo, Japan). The groups to which each material was applied are referred to as GP group, SU group and KE group, respectively.

### 1. Preparation of enamel crack specimens and dentin disc specimens

As test subject teeth, we used healthy human molars (human teeth) without caries which had been frozen at  $-40^{\circ}\text{C}$  in physiological saline for storage after being removed at the Department of Dental Surgery of our University Hospital due to necessity of removal in the course of treatment, and defrosted the teeth immediately before the experiment.

#### 1) Enamel crack specimens

After cutting the root of the tooth, we cut the crown mesiodistally. We then shaped the surface from the maximum profile part on the labial and lingual sides using a model trimmer to prepare a flat enamel surface. We polished up to #600 with waterproof abrasive paper, and prepared a cylinder-shaped enamel-dentin disc with the size of 8 mm diameter and 1 mm thickness. After dropping a 200 g weight twice from a height of 2 cm, we identified enamel cracks by phase difference using a confocal laser scanning microscope (VK-X100 series,

$\times 100$ , KEYENCE, Osaka, Japan). We allowed 10% phosphoric acid solution (Kishida Chemical, Osaka, Japan) to act on the dentin side of the enamel crack specimen for 30 seconds, then rinsed it under running water for 5 seconds. We obtained the enamel crack specimen by removing the smear layer and rinsing with distilled water in an ultrasonic cleaning machine for 5 minutes to open the dentinal tubules.

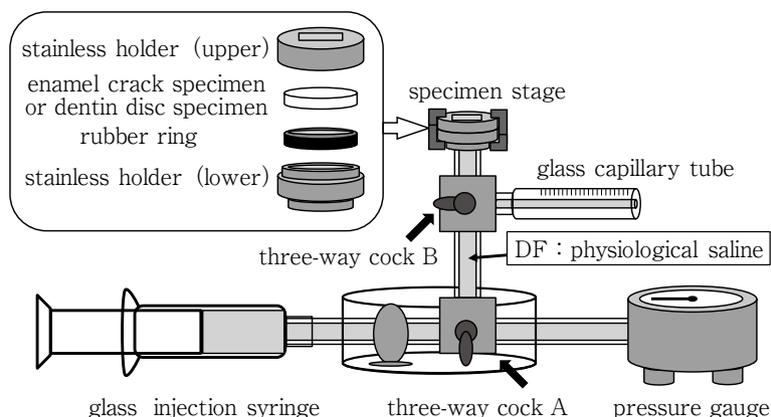
#### 2) Dentin disc specimens

We shaped the surface from the occlusal surface using a model trimmer to prepare a flat dentin surface. We then cut the root of the tooth near the tooth cervix and removed the dental pulp. We polished it up to #600 with waterproof abrasive paper, and prepared a cylinder-shaped dentin disc with the size of 8 mm diameter and 1 mm thickness for the exposed dentin surface. We allowed 10% phosphoric acid solution (Kishida Chemical) to act on the occlusal surface of the dentin disc for 30 seconds, and rinsed it under running water for 5 seconds. We then allowed 5% sodium hypochlorite solution (Kishida Chemical) to act on the dental pulp side for 10 seconds, and rinsed it under running water for 5 seconds. We obtained the dentin disc specimen by removing the smear layer on both sides and rinsing with distilled water in an ultrasonic cleaning machine for 5 minutes to open the dentinal tubules.

## 2. Experiment device

We prepared the dentin hypersensitivity model based on the method by Zennyu, et al<sup>19)</sup>(Fig. 1).

We set up the specimen stage by placing a rubber ring with 6 mm inner diameter on the dentin side of the enamel crack specimen or the dental pulp side of the dentin disc specimen, and mounting it with a stainless



**Fig. 1** Schematic diagram of a dentin hypersensitivity model

A rubber ring with an inner diameter of 6 mm was placed on the dentin side of the enamel crack specimen or the pulp side of the dentin disc specimen, inserted between the upper and lower stainless steel holders, and used as a specimen stage. The pressure in the specimen stage was adjusted to 25 mmHg, equal to human dental pulp, to reproduce the pressure in clinical practice.

steel holder to pinch the top and bottom of the specimen. We ensured fenestration in a square of 5 mm side (approx. 0.25 cm<sup>2</sup> in area) at the center to expose the surface to which to apply the desensitizer. After filling physiological saline assumed as the inner fluid of dentinal tubules (DF) inside the specimen stage while ensuring that no air was trapped, we connected it to the device for setting the inner pressure, which we prepared according to the report by Pashley, et al<sup>18)</sup>. We adjusted the inner pressure of the specimen stage to 25 mmHg, which is equivalent to the inner pressure of human dental pulp, to reproduce the inner pressure of dental pulp in clinical scenes<sup>20-23)</sup>.

### 3. Measurement of permeability inhibition rate

First, we cut off the DF from the cylinder direction with three-way cock B and connected it to the glass capillary, which was already connected to the specimen stage and the experiment device. We then blew air on the exposed enamel surface at the central fenestration part of the specimen stage for 60 seconds in this state, left it standing for 30 seconds, and measured the amount of DF movement inside the glass capillary<sup>24-26)</sup>. We specified the air pressure as 0.3 MPa. We then cut off the DF flowing inside the glass capillary by adjusting three-way cock B so that DF could flow only to the specimen stage from the cylinder direction. Next, we injected DF so that it could flow from the cylinder to the pressure gauge and the specimen stage by adjust-

ing three-way cock A, and adjusted the inner pressure to 25 mmHg. We applied each material according to the manufacturer's instructions, and cured it using Pen-Cure (J. Morita Mfg, Kyoto, Japan). We then blew air for 60 seconds in a similar fashion to that before application to the specimen, left it standing for 30 seconds, and measured the amount of DF movement again. We measured the permeability inhibition rate for each material based on the amount of DF movement before and after material application. We calculated the rate using Equation (1) below, based on the amount of DF movement before treatment (x) and amount of DF movement after treatment (y):

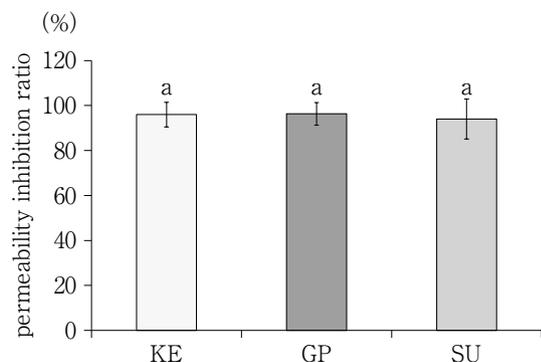
$$\text{Permeability inhibition rate (\%)} = \{(x-y)/x\} \times 100 \dots\dots (1)$$

### 4. Laser observation of enamel surface

We used a confocal laser scanning microscope (VK-X100 series, KEYENCE) to observe the enamel cracks on the surface to which desensitizer was applied before and after treatment by phase difference.

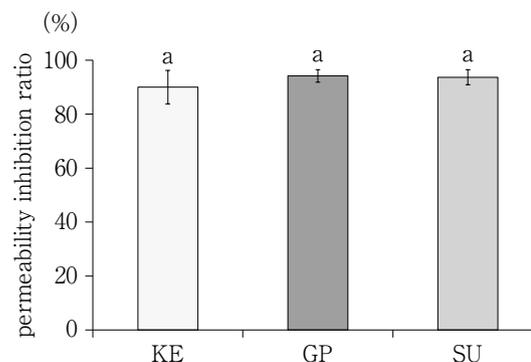
### 5. SEM observation of sample surface and longitudinal section, and measurement of enamel crack sealing depth

We conducted gold deposition on the specimens for surface observation according to the normal method. We cut each specimen for longitudinal section observation with a low-speed diamond wheel saw (Model 650, South Bay Technology, California, USA) after embed-



**Fig. 2** Measurement of the permeability inhibition rate of each dentin desensitizer in enamel cracks

Same letters indicate no significant difference ( $p > 0.05$ ).



**Fig. 3** Measurement of the permeability inhibition rate of each dentin desensitizer in dentin

Same letters indicate no significant difference ( $p > 0.05$ ).

ding it in epoxy resin. We polished it up to #2000 with waterproof abrasive paper, and soaked it in 1 mol/l hydrochloric acid (Kishida Chemical) prepared with distilled water for 1 minute, then 5% sodium hypochlorite solution (Kishida Chemical) for 5 minute to rinse it with water. We then conducted gold deposition according to the normal method. We observed each specimen with a scanning electron microscope (JSM-5610LV, JEOL, Tokyo, Japan).

We also measured the sealing depth inside the enamel crack by resin based on the longitudinal section SEM images of the enamel crack specimens.

## 6. Statistical processing

We set the number of specimens to  $n=5$  in each group, and conducted statistical processing on the permeability inhibition rate and enamel crack sealing depth which we calculated by using one-way analysis of variance and Tukey's test ( $p < 0.05$ ).

This study was conducted after obtaining approval from the ethics committee, Osaka Dental University (Approval No. 110767, May 13, 2020).

## Results

### 1. Permeability inhibition rate

Figure 2 shows the results of measuring the permeability inhibition rate after application of each material on the enamel crack specimens, and Fig. 3 the results after application of each material on the dentin disc specimens.

There was no significant difference in permeability

inhibition rates of the KE, GP and SU groups for the enamel crack specimens and dentin disc specimens, and each group indicated a high permeability inhibition rate.

### 2. Laser observation of enamel surface

Figure 4 shows the results of laser observation of the enamel surface on the enamel crack specimens.

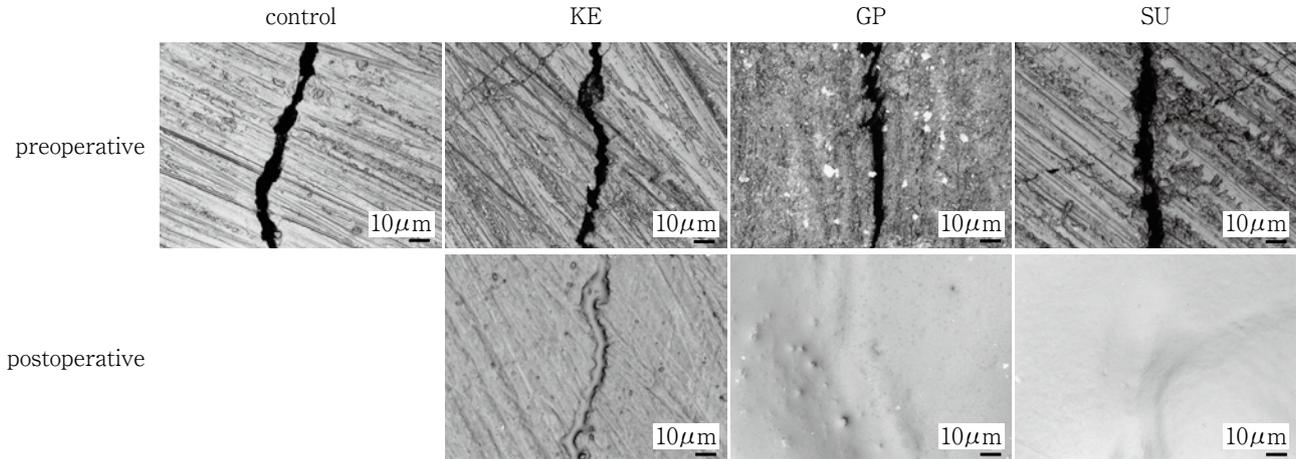
In all of the KE, GP and SU groups, we observed images in which the resin film coated the enamel crack surface.

### 3. SEM observation of specimen surface and longitudinal section

Figure 5 shows the results of SEM observation of the enamel surface and longitudinal cross-sectional surface of the enamel crack specimens, and Fig. 6 the results of SEM observation of the specimen surface and longitudinal cross-sectional surface of the dentin disc specimens.

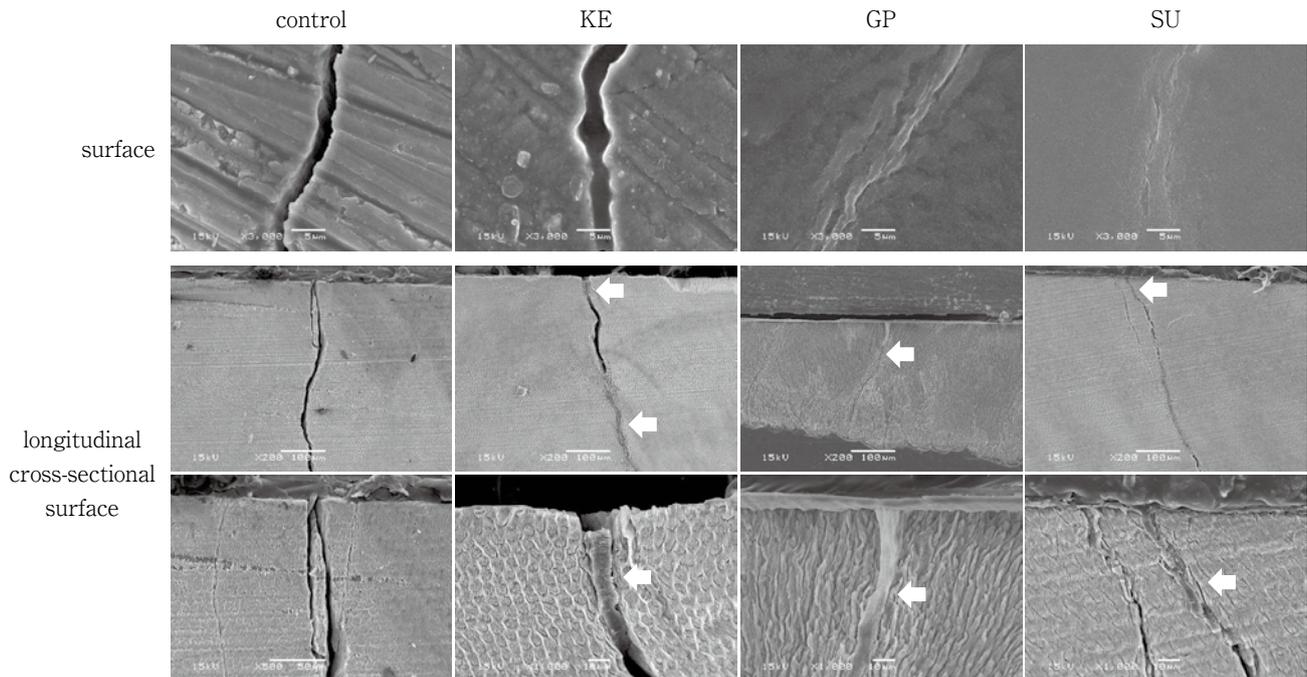
On the enamel surfaces of the enamel crack specimens in all of the KE, GP and SU groups, we observed images in which the resin film coated and sealed the enamel crack surface. On the longitudinal cross-sectional surface of all of the KE, GP and SU groups, we observed images in which the insides of enamel cracks were sealed by the penetrating resin.

On the surfaces of the dentin disc specimens in all of the KE, GP and SU groups, we observed images in which the resin film sealed the dentinal tubules and coated the dentin surface. On the longitudinal cross-sectional surface of the KE group, we observed long resin tags which penetrated into the dentinal tubules. However, we did not observe any resin tags penetrating the dentinal tubules in the GP group, and observed resin



**Fig. 4** Laser microscopic observation of enamel surface

In the KE, GP and SU groups, the superficial layer of enamel cracks appeared to be covered with a resin coating.



**Fig. 5** SEM observation of enamel surface and longitudinal cross-sectional surface of enamel crack

In the KE, GP and SU groups, the superficial layer of enamel cracks appeared to be covered with a resin coating. The specimens were embedded in epoxy resin and SEM observation of the longitudinal cross-sectional surface of the enamel crack specimens was conducted. The inner region of enamel cracks was sealed with resin (white arrows).

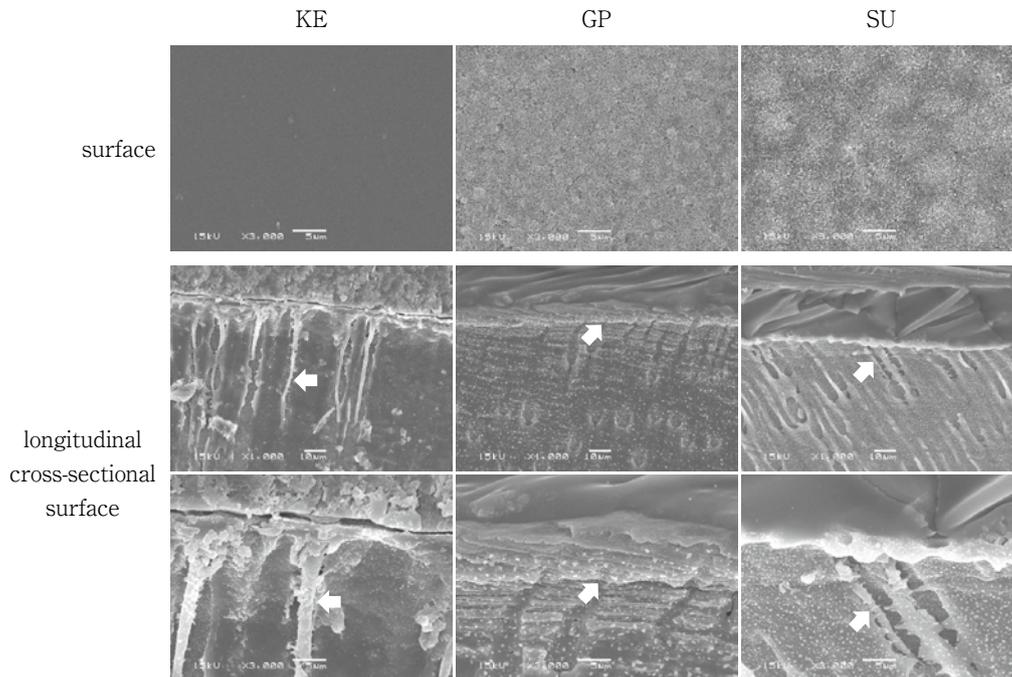
tags that penetrated slightly into the dentinal tubules in the SU group.

#### 4. Enamel crack sealing depth

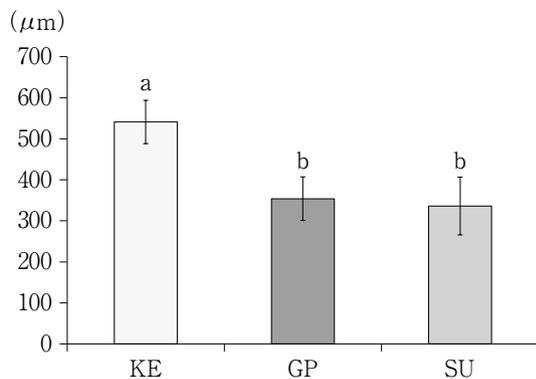
Figure 7 shows the results of enamel crack sealing depth by resin. The sealing depth of the KE group in enamel cracks was significantly larger than the values of the GP or SU group ( $p < 0.05$ ).

## Discussion

KE, which is a prototype new high-penetration resin material for tooth substrates, is intended to seal microcracks in tooth substrates, and its characteristics include low viscosity and high wettability to tooth substrates. Since it does not contain solvents such as water and



**Fig. 6** SEM observation of dentin surface and longitudinal cross-sectional surface of dentin  
 In the KE, GP and SU groups, the superficial layer of dentin appeared to be covered with a resin coating. In the KE group, resin tags penetrated into dentinal tubules (white arrows). In the GP and SU groups, there were no or a few resin tags penetrating into dentinal tubules (white arrows).



**Fig. 7** Penetration depth of resin in enamel crack  
 Different letters indicate significant differences at  $p < 0.05$ , as determined by one-way layout analysis of variance and Tukey's test.

organic solvents, it does not require air drying after application, and no polymerization failure is expected to occur thanks to no residual solvents even in deeper parts of microcracks. In addition, it quickly adheres to dentin as the hydrophilic multifunctional amide-type monomer that is contained has higher hydrophilicity than 10-MDP or HEMA, features excellent polymeriza-

tion curing property, and is considered resistant to the effects of hydrolysis even after polymerization curing. The material is also adhesive to tooth substrates<sup>27</sup>. There are resin-based desensitizer products that apply the one-step self-etching system, which uses dentin adhesive material like the one we used in this experiment. Resin-based desensitizers have been reported to deliver higher sealing abilities than other desensitizers as the resin coating adheres well to the dentin and finely covers the enamel cracks and dentinal tubules<sup>14,16,28</sup>. Many of the resin-based desensitizers contain hydrophilic monomers, hydrophobic monomers, water, and organic solvents<sup>29</sup>. Water is necessary for the etching effect of the acidic monomer, and organic solvents are necessary for dissolving the monomer components and water<sup>30</sup>. However, these solvents may cause resin polymerization to fail, and thus the solvents need to be removed thoroughly by air drying<sup>31</sup>. On the other hand, air drying during treatment can cause pain for those patients who present hypersensitivity symptoms. It is also considered difficult to remove solvents that permeate into minute enamel cracks by air drying.

Based on the permeability inhibition rate in enamel

crack specimens, the KE, GP, and SU groups showed favorable enamel crack sealing abilities, and the SEM images of the enamel surface revealed resin films that coated the surface. Based on the SEM images of the longitudinal cross-sectional surface of enamel cracks, the resin permeated more deeply into the cracks in the KE group than in the GP and SU groups, while all three groups showed resin components that permeated inside the enamel cracks. Since KE benefits from the effects of low viscosity and the hydrophilic multifunctional amide-type monomer with high affinity to dentin<sup>27)</sup>, and since it does not contain fillers, it is assumed that it permeated more deeply into fine enamel cracks. It is also assumed that sealing with resin was observed even in deeper parts of enamel cracks as sufficient polymerization occurred thanks to no solvent content, which therefore caused no failure of resin polymerization. However, due to the low mechanical strength which results from containing no fillers, the results suggest that some resin fell out from inside the enamel cracks during the preparation of specimens for SEM observation. On the other hand, for GP and SU, which are one-step self-etching systems, the viscosity of each material as well as the grain shape and size of the filler contained seemed to have affected the penetration depth into the enamel cracks, even though we observed permeation of resin components into enamel cracks for both systems. Furthermore, since GP contains acetone and water, and SU contains ethanol and water, as solvents, it is possible that the air drying did not reach sufficiently into the deep parts of enamel cracks<sup>32)</sup>.

Polymerization failure, which occurs due to the presence of unremoved residual solvents<sup>33)</sup>, may also have been a factor that resulted in the difference in penetration depth into enamel cracks.

Based on the permeability inhibition rate in dentin discs, we found that the KE, GP, and SU groups have favorable ability to seal dentinal tubules, with SEM images of the dentin surface showing resin films coating the surface. In the SEM images of the longitudinal section of dentin discs, we observed resin tags that penetrated into the dentinal tubules in the KE group. The hydrophilic multifunctional amide-type monomer contained in KE has high hydrophilicity, and KE is low in viscosity as it contains no fillers. Therefore, it is assumed that KE permeated even the dentinal tubules to which dental pulp inner pressure was applied, and

that it brought about the formation of resin tags. On the other hand, GP and SU, which are one-step self-etching systems, have been reported to have favorable adhesive properties to dentin<sup>34,35)</sup>. However, we did not observe the penetration of resin tags into the dentinal tubules in the GP group, even though we observed the bonding layer that coated the dentin surface. In addition, the SU group showed only a little penetration of resin tags into the dentinal tubules even though we observed the bonding layer that coated the dentin surface. There is a report which claimed that a coarse resin film with voids was observed due to the effects of the inner fluid of dentinal tubules, which seeps out to the dentin surface under the inner pressure of the dental pulp, when a resin-based desensitizer was applied on the dentin surface on which such inner pressure was applied<sup>26)</sup>. The results suggest that resin tags were not observed for GP and SU in this experiment as the bonding components could not seep into the dentinal tubules due to the effects of the inner fluid of the dentinal tubules under the inner pressure of the dental pulp, even though the adhesiveness between the dentin surface and bonding components was favorable.

## Conclusion

In this study, we examined the sealing ability of a prototype new high-penetration resin material for tooth substrates for enamel cracks and dentinal tubules under application of the inner pressure of human dental pulp, and obtained the following results.

1. Regarding the permeability inhibition rate on enamel cracks and dentinal tubules, we observed that the new high-penetration resin material delivered an equally high and favorable rate as conventional resin-based desensitizers.
2. Compared to conventional resin-based desensitizers, we observed that the new high-penetration resin material permeated more deeply and sealed the enamel cracks and dentinal tubules.
3. The results indicated that the new high-penetration resin material delivered a better sealing ability than conventional resin-based desensitizers.

The authors declare no conflict of interest in this study or report.

## References

- 1) Ministry of health, labour and welfare. The survey of dental diseases(2016)Summary of results chart. <https://www.mhlw.go.jp/toukei/list/dl/62-28-02.pdf> (cited 2020.6.5)
- 2) Hirayama S. Hard tissue disease, tooth developmental abnormalities and related diseases. Senda A, Miyazaki M, Hayashi M, Mukai Y, Saito T. Operative dentistry. 7th ed. Ishiyaku publishers: Tokyo; 2019. 27-35.
- 3) Han L, Sunada M, Okamoto A, Fukushima M, Okiji T. The prevalence and related symptoms of enamel cracks: A clinical survey. *Jpn J Conserv Dent* 2008; 51: 614-621. (in Japanese)
- 4) Yamaguchi M, Odaira M, Yamaguchi Y, Tanaka J, Aoki Y, Ikeda T, Meguro D, Kasai K. The evaluation of enamel cracks in adolescence. *J Esthet Dent* 2008; 21: 1-5. (in Japanese)
- 5) Sunada M, Han L, Okamoto A. Crack initiation of tooth with aging and clinical care. *Niigata Dent J* 2002; 32: 275-283. (in Japanese)
- 6) Zachrisson BU, Skogan O, Höymyhr S. Enamel cracks in debonded, debanded, and orthodontically untreated teeth. *Am J Orthod* 1980; 77: 307-319.
- 7) Zachrisson BU, Buyukyimaz T. Bonding in orthodontics. Graber TM, Vanarsdall RL, Vig KWL. Orthodontics: Current Principles and Techniques. 4th ed. Elsevier Mosby: St. Louis; 2005. 612-619.
- 8) Brännström M, Johnos G, Nordenvall K. Transmission and control of dentinal pain: resin impregnation for the desensitization of dentin. *J Am Dent Assoc* 1979; 99: 612-618.
- 9) Yoshiyama M, Noiri Y, Ozaki K, Uchida A, Ishikawa Y, Ishida H. Transmission electron microscopic characterization of hypersensitive human radicular dentin. *J Dent Res* 1990; 69: 1293-1297.
- 10) Lu L, Yasuo K, Onda K, Yoshikawa K, Yamamoto K. Influence of various dentin desensitizers on the effect of tooth whitening. *J Osaka Dent Univ* 2015; 49: 49-60.
- 11) Inoue M, Yoshikawa K, Okamoto A, Kota K, Fujii B, Iwaku M. Clinical evaluation of GLUMA3 primer to dentin hypersensitivity. *Jpn J Conserv Dent* 1996; 39: 768-776. (in Japanese)
- 12) Han L, Ishizaki H, Fukushima M, Okiji T. Effect of a prototype fluoride-containing tooth surface coating material on enamel and dentin surfaces. *Jpn J Conserv Dent* 2012; 55: 53-59. (in Japanese)
- 13) Endo H, Kawamoto R, Irokawa A, Takamizawa T, Ando S, Miyazaki M. Evaluation of an experimental desensitizing agent by means of ultrasonic device. *J J Dent Mater* 2012; 31: 116.
- 14) Shimizu H, Hoshika T, Nishitani Y, Yoshiyama M. Effect of dentin desensitizers on dentin tubules occlusion: —Influence of dentin and external stimulation—. *Jpn J Conserv Dent* 2016; 59: 249-258. (in Japanese)
- 15) Nagata T, Ishida H, Wakano Y, Ueda M, Imai H, Yamakoka A. Clinical evaluation of potassium nitrate dentifrice for dentinal hypersensitivity. *J Jpn Soc Periodontol* 1992; 34: 465-471. (in Japanese)
- 16) Furusawa K, Yasuo K, Yoshikawa K, Yamamoto K. Sealing ability of enamel crack using various dentin desensitizers. *Jpn J Conserv Dent* 2017; 60: 1-13.
- 17) Nikaido T, Tagami J, Yatani H, Ohkubo C, Nihei T, Koizumi H, Maseki T, Nishiyama Y, Takigawa T, Tsubota Y. Concept and clinical application of the resin-coating technique for indirect restorations. *Dent Mater J* 2018; 37: 192-196.
- 18) Pashley DH, Galloway SE. The effects of oxalate treatment on the smear layer of ground surfaces of human dentin. *Arch Oral Biol* 1983; 30: 731-737.
- 19) Zennyu K, Yoshikawa K, Yamamoto K. Effect of laser irradiation on dentin permeability using an in vitro model of hypersensitive dentin. *Jpn J Conserv Dent* 2008; 51: 48-62. (in Japanese)
- 20) Pashley DH, Nelson R, Pashley EL. In-vivo fluid movement across dentine in the dog. *Arch Oral Biol* 1981; 26: 707-710.
- 21) Mitchem JC, Terkla LG, Gronas DG. Bonding of resin dentin adhesives under simulated physiological conditions. *Dent Mater* 1988; 4: 351-353.
- 22) Nör JE, Feigal RJ, Dennison JB, Edwards CA. Dentin bonding: SEM comparison of the resin-dentin interface in primary and permanent teeth. *J Dent Res* 1996; 75: 1396-1403.
- 23) Sauro S, Pashley DH, Montanari M, Chersoni S, Carvalho RM, Toledano M, Osorio R, Tay FR, Prati C. Effect of simulated pulpal pressure on dentin permeability and adhesion of self-etch adhesives. *Dent Mater* 2007; 23: 705-713.
- 24) Semba T, Tabata S, Wada K, Nakama T. Morphological aspects on the fluid flow in the dentine (II): On blood capillaries in the rat incisor pulp. *Ann Kagoshima Dent* 1992; 12: 15-26. (in Japanese)
- 25) Sasazaki H, Okuda R. Periodic observation of the exudation from the dentinal tubules with time. *Jpn J Conserv Dent* 1994; 37: 1708-1718. (in Japanese)
- 26) Someya Y, Inaba D, Yonemitsu M. The influence of dentinal fluid flow on remineralization of cavity bottom by glass ionomer cement. *J Dent Hlth* 2002; 52: 43-47. (in Japanese)
- 27) Suyama Y, Yamasa T, Morigami M, Uno S, Sugizaki J. Interfacial observation with a newly developed universal type adhesive system containing a hydrophilic amide

- ester. *Adhes Dent* 2017; 35: 40-46. (in Japanese)
- 28) Nomura Y, Yasuo K, Iwata N, Yoshikawa K, Yamamoto K. Effect of various materials on dentin permeability for the treatment of dentin hypersensitivity. *Jpn J Conserv Dent* 2013; 56: 516-525.
- 29) Van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, Mine A, De Nlunck J, Van Landuyt KL. State of the art of self-etch adhesives. *Dent Mater* 2011; 27: 17-28.
- 30) Wang Y, Spencer P, Yao X, Brenda B. Effect of solvent content on resin hybridization in wet dentin bonding. *J Biomed Mater Res A* 2007; 82: 975-983.
- 31) Jacobsen T, Soderholm KJ. Some effects of water on dentin bonding. *Dent Mater* 1995; 11: 132-136.
- 32) De Munck J, Arita A, Shirai K, Van Landuyt KL, Coutinho E, Poitevin A, Peumans M, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Microrotary fatigue resistance of a HEMA-free all-in-one adhesive bonded to dentin. *J Adhes Dent* 2007; 9: 373-379.
- 33) Nunes TG, Garcia FC, Osorio R, Carvalho R, Toledano M. Polymerization efficacy of simplified adhesive systems studied by NMR and MRI techniques. *Dent Mater* 2006; 22: 963-972.
- 34) Saito T, Takamizawa T, Ishii R, Tsujimoto A, Hirokane E, Barkmeier WW, Latta MA, Miyazaki M. Influence of application time on dentin bond performance in different etching modes of universal adhesives. *Oper Dent* 2020; 45: 183-195.
- 35) Kimura S, Hanabusa M, Yamamoto T. Shear bond strengths of a one-step universal dental adhesive containing an amide-type monomer. *Adhes Dent* 2019; 37: 51-60.

## 歯質高浸透型新規レジン系材料によるエナメルクラックならびに 象牙細管の封鎖性に関する研究

三浦 樹 保尾 謙三 岩田 有弘  
吉川 一志 山本 一世

大阪歯科大学歯科保存学講座

### 抄録

目的：近年、高齢化ならびに国民1人当たりの残存歯数の増加がみられるが、それに伴って齲蝕や歯周病以外に、非齲蝕性疾患、特に象牙質知覚過敏症や、実質欠損を伴わないエナメル質の微細亀裂（エナメルクラック）による知覚過敏症状を呈する患者が増えている。新規開発された低粘度の試作歯質高浸透型新規レジン系材料は、溶剤を含まないためエアードライが必要なく、高い親水性・濡れ性を有するため歯質への馴染みがよく、エナメル質のエナメルクラックや象牙細管への高い浸透性を有している。今回われわれは、知覚過敏症罹患モデル歯質を用いて透過抑制率を測定することにより、試作歯質高浸透型新規レジン系材料のエナメルクラックならびに象牙細管の封鎖性について検討を行ったので報告する。

材料と方法：試作歯質高浸透型新規レジン系材料 KEC-100 (Kuraray Noritake Dental, KE) と、レジン系知覚過敏抑制材として G-Premio BOND (ジーシー, GP), Scotchbond Universal Adhesive (3M ESPE, SU) を使用した。健全ヒト抜去大白歯を用いて、エナメルクラック試料と象牙質ディスク試料を作製した。Pashleyらの報告に準じて作製した装置を用いて、試料を装置に接続して内圧が25 mmHgになるように規定した。各材料の塗布後、エナメルクラックと象牙細管の透過性を測定し、縦断面のSEM観察よりエナメルクラック内の封鎖深度を測定した。

結果：エナメルクラックの透過抑制率について、KEは96.0%、GPは96.3%、SUは94.0%であり、KE、GP、SU間に有意差はなく、高い透過抑制率を示した。また、象牙細管の透過抑制率について、KEは90.0%、GPは94.2%、SUは93.7%であり、KE、GP、SU間に有意差はなく、高い透過抑制率を示した。SEM観察では、エナメル質表面ならびに象牙質表面はレジンによる被覆が認められた。縦断面のSEM観察より、エナメルクラック内の封鎖深度について、KEは、GP、SUと比べて有意に高い値が認められた。また、KEは象牙細管内に深くまで侵入するレジクタグが認められたが、GPではレジクタグの侵入は認められず、SUではレジクタグの侵入はわずかであった。

結論：試作歯質高浸透型新規レジン系材料は、エナメルクラックならびに象牙細管に対して、従来のレジン系知覚過敏抑制材より高い封鎖性を有することが示唆された。

キーワード：封鎖性、知覚過敏症罹患モデル歯質、高浸透型レジン

---

責任著者連絡先：保尾謙三

〒573-1121 大阪府枚方市楠葉花園町8-1 大阪歯科大学歯科保存学講座

TEL：072-864-3077, FAX：072-864-3177, E-mail：yasuo-k@cc.osaka-dent.ac.jp

受付：2020年7月31日/受理：2020年8月26日

## ユニバーサルアドヒーシブのアクティブ処理およびエッチングモードが エナメル質接着強さおよび表面自由エネルギーに及ぼす影響

今井 亜理紗<sup>1</sup> 高見澤 俊 樹<sup>1,2</sup> 田村 友彦<sup>1</sup>  
高宮 寛<sup>1</sup> 若松 賢吾<sup>1</sup> 辻本 暁正<sup>1,2</sup>  
鈴木 総史<sup>1</sup> 鈴木 美穂<sup>1</sup> 宮崎 真至<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>日本大学歯学部保存学教室修復学講座

<sup>2</sup>日本大学歯学部総合歯学研究所生体工学研究部門

### 抄録

目的：エッチングモードおよびアクティブ処理の有無がユニバーサルアドヒーシブのエナメル質接着性に及ぼす影響について、接着強さ試験、アドヒーシブ塗布後のエナメル質面における表面自由エネルギー測定および走査型電子顕微鏡（SEM）観察を行うことによって検討した。

材料と方法：供試したユニバーサルアドヒーシブは、Clearfil Universal Bond Quick（Kuraray Noritake Dental）である。接着試験には、ウシ下顎前歯のエナメル質を、耐水性SiCペーパーの#400まで順次研削して用いた。アドヒーシブの塗布に際して、リン酸エッチングの有無ならびにアドヒーシブのアクティブ処理の有無という4条件を設定した。アドヒーシブ塗布面にコンポジットレジン接着させた試片を37°C精製水中に24時間保管後、万能試験機を用いて接着強さを測定した。さらに、アドヒーシブ処理面の表面自由エネルギーを測定するとともに、SEM観察を行った。

成績：アクティブ処理の有無にかかわらず、リン酸エッチングを行うことで有意に高いエナメル質接着強さが得られたものの、アクティブ処理の有無は接着強さに影響を及ぼさなかった。エナメル質の表面自由エネルギーは、リン酸エッチングによって有意に高くなったものの、アドヒーシブ塗布後では、リン酸エッチングの有無にかかわらずアクティブ処理によって低下する傾向を示した。SEM観察から、リン酸エッチングによってエッチングパターンが明瞭に観察されたが、アクティブ処理を行うことでこれが不明瞭になった。

結論：ユニバーサルアドヒーシブのエナメル質接着性は、リン酸エッチングを行うことで向上し、表面自由エネルギーとしては極性成分が上昇することが明らかとなった。

キーワード：エナメル質接着性、ユニバーサルアドヒーシブ、アクティブ処理、表面自由エネルギー

責任著者連絡先：高見澤俊樹

〒101-8310 東京都千代田区神田駿河台1-8-13 日本大学歯学部保存学教室修復学講座

TEL：03-3219-8141, FAX：03-3219-8347, E-mail：takamizawa.toshiki@nihon-u.ac.jp

受付：2020年8月3日/受理：2020年10月23日

DOI：10.11471/shikahozon.63.494

## 緒言

ユニバーサルアドヒーズは、組成とともに術式においても従来のシングルステップセルフエッチアドヒーズと類似点が多いとされている<sup>1,2)</sup>。しかし、ユニバーサルアドヒーズの特徴として、エッチ&リンス (ER)、セルフエッチング (SE) あるいはエナメル質のみをリン酸エッチングするセレクトティブエッチングという、異なるエッチングモードで使用可能であることが挙げられる<sup>3-6)</sup>。したがって、窩洞の大きさ、深さ、位置あるいは窩洞におけるエナメル質と象牙質との割合などを考慮して、このエッチングモードを選択することが可能であり、臨床的な応用範囲は拡大するものと考えられる<sup>4,5)</sup>。

アドヒーズを歯面に塗布する際、ブラシを用いて擦るように塗布するアクティブ処理は、いくつかのユニバーサルアドヒーズ製造者が指示している臨床技法である。このアクティブ処理は、歯質の脱灰とともにレジンモノマーの浸透性を促進させる効果を有し、これによって接着性が向上するとされている<sup>7-11)</sup>。しかし、このアクティブ処理の効果に関しては接着強さの測定からの検討が主なものであり、異なるエッチングモードにおける効果についても不明な点が多い。

そこで、ユニバーサルアドヒーズの臨床術式の確立に関する研究の一環として、エッチングモードおよびアクティブ処理の有無がエナメル質接着性に及ぼす影響について、接着強さ試験に加えて、エナメル質における表面自由エネルギーを測定することによって検討した。さらに、アドヒーズ処理面の走査型電子顕微鏡 (SEM) 観察を考察資料とした。

## 材料および方法

### 1. 供試材料および可視光線照射器

供試したユニバーサルアドヒーズは、Clearfil Universal Bond Quick (Kuraray Noritake Dental) であり、コンポジットレジンとしては Clearfil AP-X (Kuraray Noritake Dental) を、リン酸エッチング材としては Ultra-Etch (Ultradent Products, USA) を用いた (Table 1)。可視光線照射器 (Optilux 501, Kerr, USA) は、その光強度が  $600 \text{ mW/cm}^2$  以上であることを試片製作前に確認した後に使用した。

### 2. 接着試験

#### 1) 被着歯面の調整

接着試験に使用した歯は、ウシ (2~3 歳齢) 下顎前歯で、抜歯後ただちに抜髄し、歯根を切断して歯冠部のみを常温重合型レジン (Tray Resin II, Shofu) に包埋し

た。次いで、直径 4~5 mm のエナメル質平坦面が得られるようにモデルトリマーを用いて唇側中央部を研削した後、この面を耐水性 SiC ペーパーの #400 まで順次研削して、被着エナメル質面とした。

#### 2) 接着強さ測定用試片 (接着試片) の製作および保管条件

接着試片の製作および剪断接着強さ試験は、ISO 29022:2013 Dentistry—Adhesion—Notched—edge shear bond strength test に準じて行った<sup>12)</sup>。接着試片の製作に際しては、製造者指示条件を基準として、被着面に対してユニバーサルアドヒーズを 1) ER モード+アクティブ処理, 2) ER モード+アクティブ処理なし, 3) SE モード+アクティブ処理, および 4) SE モード+アクティブ処理なし, の 4 条件で塗布した後、光照射を行った (Table 2)。次いで、アドヒーズ塗布面にウルトラデント治具 (Ultradent Products) を設置し、内径 2.4 mm および高さ 2.5 mm のプラスチック型にコンポジットレジン充填して 30 秒間光照射を行った。これらの接着試片は、37°C 精製水中に 24 時間保管した。なお、アクティブ処理に関しては、各条件間で差が出ないように同一の術者が実験期間を通して被着面処理を行った。

#### 3) 接着強さの測定

所定の保管期間が終了した接着試片について、万能試験機 (Type 5500R, Instron, USA) を用いてクロスヘッドスピード  $1.0 \text{ mm/min}$  の条件で接着強さを測定した。得られた値から、各条件における平均値および標準偏差を求めた。なお、各条件における試片の数は 10 個とし、接着試験終了後の試片については、実体顕微鏡を用いてレジン側破断面を観察し、破壊形式を分類した。

## 3. 表面自由エネルギーの測定

表面自由エネルギーの測定は、接着試験と同様の条件でアドヒーズを塗布した処理面を、アセトンおよび蒸留水で 15 秒間ずつ交互洗浄することを 3 回繰り返して行い、これを接触角測定用試片とした。表面自由エネルギーが既知の液体として、1-ブロムナフタレン、ジヨードメタンおよび蒸留水を使用した (Table 3)。接触角の測定は、全自動接触角計 (Drop Master DM 500, Kyowa Interface Science) を用い、セシルドロップ法で各液滴を  $1 \mu\text{l}$  滴下し、装置に付属するソフトウェア (FAMAS, Kyowa Interface Science) を用いて  $\theta/2$  法で測定を行った。なお、各条件における試片数は 10 個とし、未処理面およびリン酸エッチング処理面についても同様に測定を行った。

表面自由エネルギーと接触角との関係は、接着仕事量を  $W_{SL}$ 、液体の表面自由エネルギーを  $\gamma_L$ 、個体の表面自由エネルギーを  $\gamma_S$  および接触角を  $\theta$  としたとき、次の拡張 Fowkes の理論式で定義される。

**Table 1** Materials used in the study

Code	Adhesive (Lot No.)	Main components	Manufacturer
CU	Clearfil Universal Bond Quick (4G0011)	bis-GMA, MDP, HEMA, hydrophilic amide monomer, filler, ethanol, water, NaF, photo initiators, chemical polymerization, accelerator, silane coupling agent, others dimethacrylate resins, initiators, water	Kuraray Noritake Dental
Etching agent			
	Ultra-Etch (G017)	35% phosphoric acid	Ultradent Products
Resin composite			
	Clearfil AP-X (N416713)	bis-GMA, TEGDMA, silane barium glass filler, silane silica filler, silanated colloidal silica, CQ, pigments, others	Kuraray Noritake Dental

bis-GMA : 2,2-bis [4-(2-hydroxy-3-methacryloyloxypropoxy) phenyl] propane, MDP : 10-methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate, HEMA : 2-hydroxyethyl methacrylate, TEGDMA : triethyleneglycol dimethacrylate, CQ : *dl*-camphorquinone

**Table 2** Application protocol for pre-etching and self-etching adhesives

Etching-mode		Pre-etching protocol
Etch-&-rinse		Enamel surface was conditioned with phosphoric acid for 15 s. Conditioned surface was rinsed with water for 15 s (three-way dental syringe) and air-dried.
Self-etch		Phosphoric acid pre-etching was not conducted.
Code	Application method	Adhesive application protocol
CU	Active application	Adhesive applied to air-dried enamel surface with rubbing action for 10 s, followed by application of a mild stream of air for 5 s or until the adhesive no longer moved and the solvent had completely evaporated. Light irradiated for 10 s.
	Inactive application	Adhesive applied to air-dried enamel surface without rubbing action for 10 s, followed by application of a mild stream of air for 5 s or until the adhesive no longer moved and the solvent had completely evaporated. Light irradiated for 10 s.

**Table 3** Surface free energy and their component values of tested liquids

Liquid	Lot No.	Manufacturer	$\gamma_L$	$\gamma_L^d$	$\gamma_L^p$	$\gamma_L^h$
1-Bromonaphthalene	ALH4513	Wako Pure Chemical Industries	44.6	44.4	0.2	0.0
Diiodomethane	ALL2310	Wako Pure Chemical Industries	50.8	46.8	4.0	0.0
Distilled water	—	—	72.8	29.1	1.3	42.4

Unit :  $\text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$ .

$\gamma_L$  : surface free energy,  $\gamma_L^d$  : dispersion force,  $\gamma_L^p$  : polarity force,  $\gamma_L^h$  : hydrogen-bonding force

**Table 4** Influence of application condition on enamel bond strength and failure mode analysis (MPa)

	Etch-&-rinse mode		Self-etch mode	
	Active	Inactive	Active	Inactive
CU	41.8 (1.6) <sup>a</sup> [86.7/0/0/13.3]	43.0 (3.5) <sup>a</sup> [80/0/0/20]	29.0 (4.0) <sup>b</sup> [100/0/0/0]	27.8 (2.6) <sup>b</sup> [100/0/0/0]

N=10, values in parentheses indicate standard deviation.

Same small letter in horizontal columns indicates no difference at 0.05 significance level.

Failure mode : [adhesive failure/cohesive failure in resin composite/cohesive failure in enamel/mixed failure] in percentage of each failure mode.

$$W_{SL} = \gamma_L + \gamma_S - \gamma_{SL} = \gamma_L(1 + \cos\theta)$$

この拡張 Fowkes の理論式を用いて、各条件における表面自由エネルギー ( $\gamma_S$ ) を分散 ( $\gamma_S^d$ )、双極子 ( $\gamma_S^p$ ) および水素結合 ( $\gamma_S^h$ ) の各成分を、次に示す理論式から算出した<sup>13)</sup>。

$$\gamma_{SL} = \gamma_L + \gamma_S - 2(\gamma_L^d \cdot \gamma_S^d)^{1/2} - 2(\gamma_L^p \cdot \gamma_S^p)^{1/2} - 2(\gamma_L^h \cdot \gamma_S^h)^{1/2}$$

$$\gamma_L = \gamma_L^d + \gamma_L^p + \gamma_L^h$$

$$\gamma_S = \gamma_S^d + \gamma_S^p + \gamma_S^h$$

#### 4. SEM 観察

各条件におけるアドヒーズ塗布後のENAMEL質処理面のSEM観察用試片は、表面自由エネルギー測定用試片と同様に製作した。製作したSEM観察用試片は、tert-ブタノール上昇系列に順次浸漬した後、凍結乾燥(Model ID-3, Elionix)を行った。その後、試片に対してイオンコーター(Quick Coater Type SC-201, Sanyu Electric)を用いて金蒸着し、フィールドエミッションSEM(ERA-8800 FE, Elionix)を用いて加速電圧10kVの条件で観察した。

#### 5. 統計解析

得られた接着強さおよび表面自由エネルギーについて、等分散性を確認した後、分散分析およびTukey HSD testを用いて有意水準5%の条件で多重比較検定を行った。

## 成 績

### 1. 接着強さ

異なるエッチングモードおよびアクティブ処理の有無が、ユニバーサルアドヒーズの接着強さに及ぼす影響の成績をTable 4に示す。二元配置分散分析の結果から、エッチングモードは接着強さへの有意な影響因子であったものの( $p < 0.001$ )、アドヒーズの塗布法は接着強さへの有意な因子ではなかった( $p = 0.67$ )。また、各因子間での相互作用は認められなかった( $p = 0.162$ )。

ENAMEL質接着強さは、ERモードでは41.8~43.0

MPa, SEモードでは27.8~29.0 MPaと、塗布法の違いにかかわらずERモードはSEモードに比較して有意に高い接着強さを示した。また、各エッチングモードでアクティブ処理の有無を比較すると、いずれのモードにおいても有意差は認められなかった。

接着試験終了後の破断面における破壊形式の成績を、Table 4に示す。ERモードでは、塗布法の違いにかかわらず、界面破壊が大勢を占めたものの混合破壊が散見され、SEモードでは塗布法の違いにかかわらずすべて界面破壊であった。

### 2. 表面自由エネルギー

異なるエッチングモードおよびアクティブ処理の有無が、ユニバーサルアドヒーズ塗布前後のENAMEL質における表面自由エネルギーに及ぼす影響の成績をTable 5に示した。ENAMEL質研削面およびリン酸エッチング処理面の表面自由エネルギー( $\gamma_S$ )は、それぞれ60.0  $\text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$ および78.3  $\text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$ であり、リン酸エッチングによって表面自由エネルギーは有意に高くなった。また、ユニバーサルアドヒーズ塗布後の $\gamma_S$ は、いずれのエッチングモードおよびアドヒーズにおいてもアクティブ処理群はアクティブ処理なし群に比較して、有意差は認められないものの $\gamma_S$ が低下する傾向を示した。一方、分散成分( $\gamma_S^d$ )はエッチングモードおよび塗布法にかかわらず41.0~42.5  $\text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$ であり、有意差は認められなかった。双極子成分( $\gamma_S^p$ )は、塗布法の違いにかかわらずERモードでSEモードに比較して高い値を示した。また水素結合成分( $\gamma_S^h$ )は、いずれのエッチングモードにおいてもアクティブ処理を行うことで低くなる傾向が認められた。

### 3. SEM 観察

アドヒーズ塗布前の研削被着面およびリン酸エッチング後のENAMEL質表面のSEM像の代表例を、Fig. 1に示す。SiCペーパー研削面は、削条痕とともにスミヤ層の残留が観察された(Fig. 1-a)。一方、リン酸エッチング処理面はスミヤ層が完全に除去され、明瞭なエッチングパターンが観察された(Fig. 1-b)。異なるエッチ

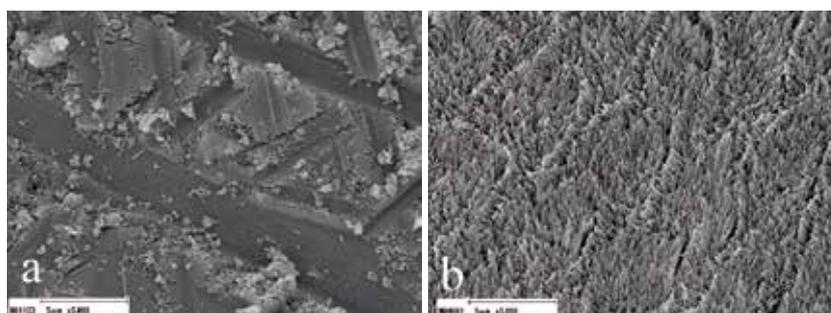
**Table 5** Effect of application condition on surface free-energy ( $\text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$ )

Application condition		$\gamma_s$	$\gamma_s^d$	$\gamma_s^p$	$\gamma_s^h$	
Baseline	Initial	60.0 (1.5) <sup>b</sup>	41.5 (0.5) <sup>a</sup>	3.0 (0.3) <sup>d</sup>	14.6 (2.6) <sup>b</sup>	
	Pre-etch	78.3 (2.0) <sup>a</sup>	41.7 (0.6) <sup>a</sup>	9.6 (1.2) <sup>a</sup>	27.8 (2.4) <sup>a</sup>	
CU	Etch-&-rinse	Active	48.0 (2.3) <sup>c</sup>	41.0 (1.6) <sup>a</sup>	7.1 (2.7) <sup>b</sup>	0.2 (0.1) <sup>c</sup>
		Inactive	49.5 (1.5) <sup>c</sup>	42.3 (1.0) <sup>a</sup>	6.3 (0.6) <sup>bc</sup>	0.4 (0.1) <sup>c</sup>
	Self-etch	Active	44.8 (1.6) <sup>d</sup>	42.5 (1.6) <sup>a</sup>	3.0 (0.6) <sup>d</sup>	0.3 (0.2) <sup>c</sup>
		Inactive	46.6 (1.6) <sup>cd</sup>	41.7 (1.0) <sup>a</sup>	4.5 (1.0) <sup>cd</sup>	0.5 (0.3) <sup>c</sup>

N=10, values in parentheses indicate standard deviation.

$\gamma_s$ ; total free energy,  $\gamma_s^d$ ; dispersion force,  $\gamma_s^p$ ; polar force,  $\gamma_s^h$ ; hydrogen-bonding force

Same small letter in a column indicates no significant differences at 0.05 significance level.



**Fig. 1** Representative SEM images of initial and treated enamel surfaces

(a) Ground with #400 SiC paper (baseline sample,  $\times 5,000$  magnification).

(b) Phosphoric acid pre-etching for 15 sec (baseline sample,  $\times 5,000$  magnification).

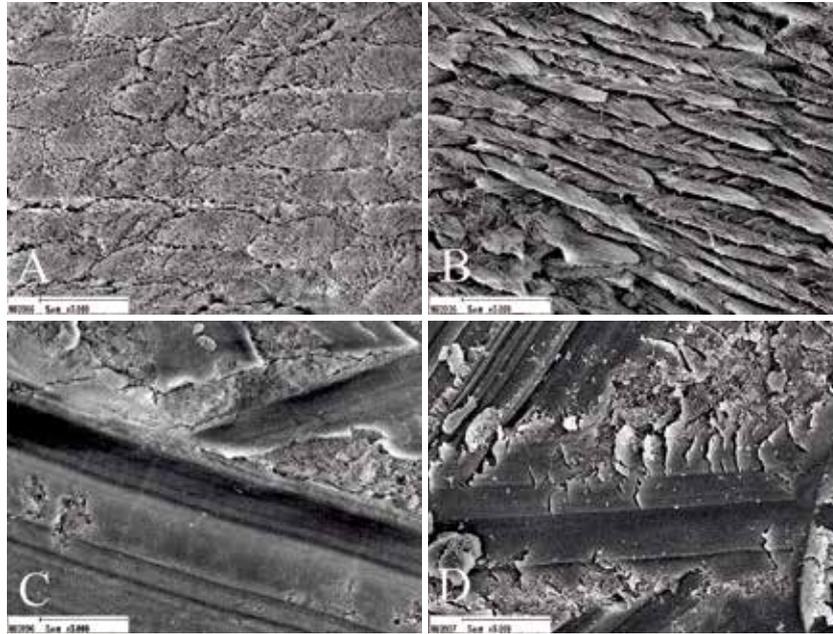
ングモードでユニバーサルアドヒーズブを用いた際の、アクティブ処理群およびこれを行わなかった群のSEM像の代表例をFig.2に示す。ERモードでは、いずれの塗布法においてもエッチングパターンは観察されたものの、アクティブ処理群ではエッチングパターンは不明瞭となった(Fig.2A, 2B)。一方、SEモードでのエナメル質処理面は、SiCペーパー研削面と同様な像を示し、アクティブ処理の有無にかかわらずエッチングパターンは観察されず、部分的にスミア層が残留した像を示した(Fig.2C, 2D)。

## 考 察

近年、ユニバーサルアドヒーズブは簡便な操作性とともに汎用性が高いところから使用頻度が増加している。ユニバーサルアドヒーズブは、窩洞の状況に合わせて最適なエッチングモードを選択することでエナメル質および象牙質への接着耐久性の向上が期待できるとされている<sup>4,5)</sup>。一方、ユニバーサルアドヒーズブの塗布に関しては、塗布時間、塗布法あるいはエアブロー圧が製品に

よって異なっている。特に、ユニバーサルアドヒーズブを塗布する際のアクティブ処理は、歯質接着性を向上させることを目的として多くの製造者が指示している。しかし、異なるエッチングモードにおけるアクティブ処理がエナメル質接着性に及ぼす影響に関する報告は少ない。そこで、異なるエッチングモードおよび塗布法がユニバーサルアドヒーズブのエナメル質接着性に及ぼす影響について、接着強さおよびアドヒーズブ塗布後の表面自由エネルギーの測定およびSEM観察によって検討した。

接着強さ試験の結果から、ERモードのエナメル質接着強さは、アクティブ処理の有無にかかわらず、SEモードに比較して高い値を示した。この結果は、リン酸エッチングを併用したセルフエッチングシステムのエナメル質接着性に関するこれまでの研究結果と一致するものであった<sup>14,15)</sup>。エナメル質へのリン酸エッチングは、ヌレ性を向上させるとともに投錨効果を発揮することで強固な機械的嵌合力を得ている<sup>16-18)</sup>。表面自由エネルギー測定結果からも、リン酸エッチング処理面はSiCペーパー研削面に比較して $\gamma_s$ が約30%上昇したが、これは双極子



**Fig. 2** Representative SEM images of enamel surfaces treated with CU  
 (A) Etch-&-rinse mode with active application (×5,000 magnification). (B)  
 Etch-&-rinse mode with inactive application (×5,000 magnification). (C) Self-  
 etch mode with active application (×5,000 magnification). (D) Self-etch mode  
 with inactive application (×5,000 magnification).

成分 ( $\gamma_S^p$ ) および水素結合成分 ( $\gamma_S^h$ ) の有意な上昇によるものであった。

一方、ERモードにおいてアクティブ処理の有無を比較すると、アクティブ処理群で接着強さが低下する傾向を示した。この理由として、リン酸エッチングによって形成されたエッチングパターンが、アクティブ処理によってその一部が崩壊することで投錨効果が減弱したためと考えられた。SEM観察からも、リン酸エッチング後のアクティブ処理面はエッチングパターンが押しつぶされたような像が認められた。一方、ERモードにおける表面自由エネルギー測定からは、すべてのアドヒーズでアクティブ処理後の  $\gamma_S$  は、アクティブ処理を行わなかった群に比較して低い値を示した。これは、アクティブ処理によって機能性モノマーと歯質との化学的結合が促進されたことで疎水性化<sup>19,20)</sup>、結果として  $\gamma_S^h$  の値が低下したことによるものと考えられた。

SEシステムのレジンモノマーは、残留したスミヤー層内に浸透することで「レジン・スミヤー複合体」を形成する<sup>21,22)</sup>。歯質の脱灰に關与するアドヒーズ中の水素イオンは、pHが比較的高いマイルドタイプでは、スミヤー層によって中和される<sup>23)</sup>。したがって、マイルドタイプに属すユニバーサルアドヒーズにおいては、アクティブ処理を行うことによってSEモードでは歯質の脱灰、HApとの化学的反應およびレジンモノマーの浸透

性が促進されると考えられた<sup>24)</sup>。

本研究に用いたユニバーサルアドヒーズでは、異なるエッチングモードにおける  $\gamma_S^h$  に有意差は認められなかったものの、いずれのエッチングモードにおいてもアクティブ処理群は、これを行わない群に比較して低い  $\gamma_S$  および  $\gamma_S^h$  を示した。一方、ERモードの  $\gamma_S$  および  $\gamma_S^p$  は、アクティブ処理の有無にかかわらずSEモードと比較して高い値を示した。  $\gamma_S^h$  は、ENAMEL質表面の水分と水酸基成分に關係し、  $\gamma_S^p$  は双極子相互作用に加えて電気的および金属的相互作用を示す成分である<sup>18)</sup>。一般に、高い極性を有する物質は水溶性を示し、極性が低い物質は有機溶媒に可溶性を示す。このように、固体歯面における極性の特徴を知ることによって、表面処理後の界面科学的性状が親水性あるいは疎水性のどちらを示すかを知ることができる。この観点からは、いずれのエッチングモードにおいてもアクティブ処理群は、アクティブ処理を行わない群に比較して低い  $\gamma_S$  および  $\gamma_S^h$  を示したところから、アクティブ処理を行ったENAMEL質表面は疎水性を示す傾向にあったことが示された。また、この疎水性の由来は、歯質と反応することによってENAMEL質表面に強く配向した機能性モノマーによるものと考えられた。

以上のように本実験の結果から、ユニバーサルアドヒーズのENAMEL質接着性は、エッチングモードおよ

びアドヒーズの塗布法の影響を受けることが明らかとなった。

## 結 論

異なるエッチングモードおよび塗布法が、ユニバーサルアドヒーズのエナメル質接着性に及ぼす影響について、接着強さ試験および表面自由エネルギー測定およびSEM観察を行うことによって検討した結果、以下の結論を得た。

1. アドヒーズ塗布法の違いにかかわらず、ERモードはSEモードに比較して有意に高い接着強さを示した。
2. 各エッチングモード間で接着強さを比較すると、アドヒーズ塗布法の違いに有意差は認められなかった。
3. エナメル質研削面およびリン酸エッチング処理面の表面自由エネルギーは、それぞれ  $60.0 \text{ mN} \cdot \text{m}^{-1}$  および  $78.3 \text{ mN} \cdot \text{m}^{-1}$  であり、リン酸エッチングによって表面自由エネルギーが有意に高くなった。
4. アドヒーズ塗布後の  $\gamma_s$  は、いずれのエッチングモードにかかわらず、アクティブ処理群はこれを行わなかった群に比較して低下する傾向を示した。
5. SEM観察から、ERモードではいずれのアドヒーズおよび塗布法にかかわらずエッチングパターンが観察されたものの、アクティブ処理群のエッチングパターンはこれを行わなかった群に比較して不明瞭であった。

本研究の一部は、日本学術振興会科学研究費補助金(19K10158)、日本大学歯学部佐藤研究費、総合歯学研究費研究費および上村安男・治子研究費によって行われた。

本論文で開示すべき利益相反状態はない。

## 文 献

- 1) Muñoz MA, Luque-Martinez I, Malaquias P, Hass V, Reis A, Campanha NH, Loguercio AD. In vitro longevity of bonding properties of universal adhesives to dentin. *Oper Dent* 2015; 40: 282-292.
- 2) McLean DE, Meyers EJ, Guillory VL, Vandewalle KS. Enamel bond strength of new universal adhesive bonding agents. *Oper Dent* 2015; 40: 410-417.
- 3) Rosa WL, Piva E, Silva AF. Bond strength of universal adhesives: A systematic review and meta-analysis. *J Dent* 2015; 43: 765-776.
- 4) Takamizawa T, Barkmeier WW, Tsujimoto A, Berry TP, Watanabe H, Erickson RL, Latta MA, Miyazaki M. Influence of different etching modes on bond strength and fatigue strength to dentin using universal adhesive systems. *Dent Mater* 2016; 32: e9-e21.
- 5) Suzuki T, Takamizawa T, Barkmeier WW, Tsujimoto A, Endo H, Erickson RL, Latta MA, Miyazaki M. Influence of etching mode on enamel bond durability of universal adhesive systems. *Oper Dent* 2016; 41: 520-530.
- 6) Nagarkar S, Theis-Mahon N, Perdigão J. Universal dental adhesives: Current status, laboratory testing, and clinical performance. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2019; 107: 2121-2131.
- 7) Ando S, Watanabe T, Tsubota K, Yoshida T, Irokawa A, Takamizawa T, Kurokawa H, Miyazaki M. Effect of adhesive application methods on bond strength to bovine enamel. *J Oral Sci* 2008; 50: 181-186.
- 8) Torres CRG, Barcellos DC, Pucci CR, Lima GMG, Rodrigues CM, Siviero M. Influence of methods of application of self-etching adhesive systems on adhesive bond strength to enamel. *J Adhes Dent* 2009; 11: 279-286.
- 9) Loguercio AD, Stanislawczuk R, Mena-Serrano A, Reis A. Effect of 3-year water storage on the performance of one-stop self-etch adhesives applied actively on dentine. *J Dent* 2011; 39: 578-587.
- 10) Loguercio AD, Muñoz MA, Luque-Martinez I, Hass V, Reis A, Perdigão J. Does active application of universal adhesives to enamel in self-etch mode improve their performance. *J Dent* 2015; 43: 1060-1070.
- 11) Moritake N, Takamizawa T, Ishii R, Tsujimoto A, Barkmeier WW, Latta MA, Miyazaki M. Effect of active application on bond durability of universal adhesives. *Oper Dent* 2019; 44: 188-199.
- 12) International Organization for Standardization. Dentistry—Adhesion—Notched—edge shear bond strength test, ISO 29022, 2013.
- 13) Hata T, Kitazaki Y, Saito T. Estimation of the surface energy of polymer solids. *J Adhes* 1987; 21: 177-194.
- 14) Watanabe T, Tsubota K, Takamizawa T, Kurokawa H, Rikuta A, Ando S, Miyazaki M. Effect of prior acid etching on bonding durability of single-step adhesives. *Oper Dent* 2008; 33: 426-433.
- 15) Takamizawa T, Barkmeier WW, Tsujimoto A, Endo H, Tsuchiya K, Erickson RL, Latta MA, Miyazaki M. Influence of pre-etching time on fatigue strength of self-etch adhesives to enamel. *J Adhes Dent* 2016; 18: 501-511.
- 16) Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, Van Landuyt KL, Lambrechts P, Vanherle G. Buonocore memorial lecture, Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent* 2003; 28: 215-235.
- 17) Barkmeier WW, Erickson RL, Kimmes NS, Latta MA, Wilwerding TM. Effect of enamel etching time on roughness and bond strength. *Oper Dent* 2009; 34: 217-222.

- 18) Tsujimoto A, Iwasa M, Shimamura Y, Murayama R, Takamizawa T, Miyazaki M. Enamel bonding of single-step self-etch adhesives: Influence of surface energy characteristics. *J Dent* 2010; 38: 123-130.
- 19) Yoshida Y, Nagakane K, Fukuda R, Nakayama Y, Okazaki M, Shintani H, Inoue S, Tagawa Y, Suzuki K, De Munck J, Van Meerbeek B. Comparative study on adhesive performance of functional monomers. *J Dent Res* 2004; 83: 454-458.
- 20) Yoshihara K, Hayakawa S, Nagaoka N, Okihara T, Yoshida Y, Van Meerbeek B. Etching efficacy of self-etching functional monomers. *J Dent Res* 2018; 97: 1010-1016.
- 21) Tay FR, Pashley DH. Aggressiveness of contemporary self-etching systems. I: Depth of penetration beyond dentin smear layers. *Dent Mater* 2001; 17: 296-308.
- 22) Mine A, De Munck J, Cardoso MV, Van Landuyt KL, Poitevin A, Van Ende A, Matsumoto M, Yoshida Y, Kuboki T, Yatani H, Van Meerbeek B. Dentin-smear remains at self-etch adhesive interface. *Dent Mater* 2014; 30: 1147-1153.
- 23) Mine A, De Munck J, Cardoso MV, Van Landuyt KL, Poitevin A, Kuboki T, Yoshida Y, Suzuki K, Van Meerbeek B. Enamel-smear compromises bonding by mild self-etch adhesives. *J Dent Res* 2010; 89: 1505-1509.
- 24) Yoshihara K, Yoshida Y, Hayakawa S, Nagaoka N, Irie M, Ogawa T, Landuyt KL, Osaka A, Suzuki K, Minagi S, Van Meerbeek B. Nanolayering of phosphoric acid ester monomer on enamel and dentin. *Acta Biomater* 2011; 7: 3187-3195.

## Influence of Active Application and Etching Mode on Enamel Bond Strength and Surface Free Energy of a Universal Adhesive

IMAI Arisa<sup>1</sup>, TAKAMIZAWA Toshiki<sup>1,2</sup>, TAMURA Tomohiko<sup>1</sup>,  
TAKAMIYA Hiroshi<sup>1</sup>, WAKAMATSU Kengo<sup>1</sup>, TSUJIMOTO Akimasa<sup>1,2</sup>,  
SUZUKI Soshi<sup>1</sup>, SUZUKI Miho<sup>1</sup> and MIYAZAKI Masashi<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Department of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry

<sup>2</sup>Division of Biomaterials Science, Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry

### Abstract

**Purpose:** The purpose of this study was to investigate the influence of active application and etching mode on the enamel bond performance of a universal adhesive based on shear bond strength (SBS) tests and surface free-energy (SFE) measurements.

**Materials and Methods:** A universal adhesive, Clearfil Universal Bond Quick (CU, Kuraray Noritake Dental), was used. Bovine enamel surfaces were ground with silicon carbide papers, ending at #400-grit. The prepared enamel specimens were divided into four groups following surface treatment: (1) etch-&-rinse mode with active application; (2) etch-&-rinse mode with inactive application; (3) self-etch mode with active application; (4) self-etch mode with inactive application. Ten bonded specimens per group were stored in 37°C water for 24 h, and then SBS tests were performed. The SEF of the enamel surfaces with different application modes was measured after rinsing with acetone and water. Representative treated enamel surfaces were observed with a scanning electron microscope (SEM). One-way ANOVA followed by Tukey's honestly significant difference test ( $\alpha = 0.05$ ) was performed for analysis of the SBS and SFE data.

**Results:** The SBS values in etch-&-rinse mode were significantly higher than those in self-etch mode regardless of with or without active application. On the other hand, there were no significant differences in SBS between the active and inactive application groups. For baseline, the enamel surface after phosphoric acid etching showed a significantly higher total SFE value than the initial (just ground) enamel surface. A reduction in total SFE was observed for the active application groups compared with the inactive application groups. From the SEM observations, although typical etching patterns were observed in etch-&-rinse mode, the spicular etching pattern appeared to be collapsed in active application.

**Conclusion:** The results of this study indicated that the SBS values of the universal adhesive tested were significantly higher in etch-&-rinse mode than in self-etch mode, regardless of the adhesive application mode. Regarding the SFE, the universal adhesive showed higher polar force in etch-&-rinse mode than in self-etch mode.

**Key words:** enamel bonding, universal adhesive, active application, surface free energy

## 高グルコース条件下における歯肉線維芽細胞のカルプロテクチン誘導性炎症関連因子の産生におけるスダチチンの抑制効果

西川 泰史 成石 浩司<sup>1</sup>  
木戸 淳一<sup>2</sup> 湯本 浩通<sup>2</sup>

徳島大学病院口腔インプラントセンター

<sup>1</sup>徳島大学病院歯科・歯周病科

<sup>2</sup>徳島大学大学院医歯薬学研究部 歯周歯内治療学分野

### 抄録

目的：糖尿病患者の歯周病は重症化する。本研究では、糖尿病患者において重症化した歯周病におけるスダチチン果皮抽出物スダチチンの治療効果を検討することを目的とし、その第一段階として高グルコース条件下で培養した歯肉線維芽細胞において、カルプロテクチンによって誘導される炎症関連因子の産生におけるスダチチンの抑制効果を調べた。

方法：細胞はヒト歯肉線維芽細胞 CRL-2014 (ATCC) を用い、培養は通常のグルコース濃度 (5.5 mmol/l) を Normal Glucose (NG), 高グルコース濃度 (25 mmol/l) を High Glucose (HG) とした。なお、浸透圧対照として NG に 19.5 mmol/l のマンニトール (MN) を添加して調製した群を実験系に加えた。カルプロテクチンで刺激した後のヒト歯肉線維芽細胞の IL-6, MCP-1, MMP-1 および TIMP-1 の産生性は ELISA キットを用いて測定・評価し、I $\kappa$ B $\alpha$  および p65 のリン酸化誘導の有無はウエスタンブロット法によって検討した。なお、カルプロテクチン刺激の60分前にスダチチンを添加して、カルプロテクチンによる炎症関連因子の産生誘導におけるスダチチンの抑制効果を調べた。

結果：HG 群の歯肉線維芽細胞において、カルプロテクチン誘導性の MMP-1 および MCP-1 産生は対照群と比較して有意に亢進したが、HG による IL-6 の産生亢進はみられなかった。一方、TIMP-1 の産生はカルプロテクチン刺激によって変化しなかった。また、HG 群の歯肉線維芽細胞をカルプロテクチンで刺激すると、対照群と比較して I $\kappa$ B $\alpha$  および p65 のリン酸化が著明に亢進した。なお、スダチチンはカルプロテクチンによる MCP-1, MMP-1 の誘導および I $\kappa$ B $\alpha$  および p65 のリン酸化を劇的に抑制した。

結論：スダチチンは、NG 群および HG 群の歯肉線維芽細胞においてカルプロテクチン誘導性 MCP-1 および MMP-1 産生を抑制する。このことは、スダチチンが慢性歯周炎および糖尿病患者にみられる歯周病の重症化を抑制する可能性を示唆する。

キーワード：糖尿病，歯周病，スダチチン，カルプロテクチン，歯肉線維芽細胞

責任著者連絡先：成石浩司

〒770-8504 徳島市蔵本町3-18-15 徳島大学病院歯科・歯周病科

TEL：088-633-7344, FAX：088-633-7345, E-mail：naruishi@tokushima-u.ac.jp

受付：2020年8月26日/受理：2020年10月30日

DOI：10.11471/shikahozon.63.503

## 緒 言

現在、わが国の糖尿病予備軍を含めた糖尿病患者数は約2000万人と推計され、糖尿病は「国民を悩ます」疾患として広く認知されている<sup>1)</sup>。一方、歯周病は糖尿病の合併症の一つであり、古くから糖尿病患者の歯周病は重症化することが知られるが、その病態は不明である。

歯肉線維芽細胞は歯周組織の恒常性を維持する役割を有するが、同時に歯周病の炎症反応を制御することも明らかになっている。われわれはこれまでに、好中球などが産生するカルプロテクチンが歯肉線維芽細胞のインターロイキン (IL)-6産生を劇的に誘導することを報告した<sup>2)</sup>。このことは、カルプロテクチンは歯周病の重症化機序の一翼を担うことを意味する。一方、われわれは歯肉線維芽細胞を高グルコース条件下で培養すると、IL-1 $\beta$ やIL-6による血管内皮増殖因子 (VEGF) あるいはマトリックスプロテアーゼ (MMP) などの炎症関連因子の産生がさらに亢進されるという研究成果を基に、糖尿病患者の歯周病が重症化する病態機序を報告してきた<sup>3)</sup>。しかしながら、カルプロテクチンが糖尿病患者の歯周病重症化に関与するかどうかは不明である。

スダチ (酢橘, *Citrus sudachi*) は、徳島県が主な産地として全国収穫量の約98%を占める日本固有の柑橘類である<sup>4)</sup>。スダチは搾汁された後、果汁はポン酢やジュース類の原料として利用されるが、果皮などの搾汁残渣については、その多くは堆肥化されるものの、その他の有効活用が検討されている。すなわち柑橘類の果皮には多くのポリフェノールが含まれ、これまでに抗がん作用や抗血糖作用などが報告されており<sup>5)</sup>、スダチ果皮においても同様の健康増進効果が期待されている。最近、高脂肪食を与えた肥満マウスにスダチ果皮から抽出・同定されたポリフェノールのスダチチンを長期投与することで、その血糖値が有意に改善したと報告された<sup>6)</sup>。すなわちスダチチンには、糖尿病患者の血糖値を改善する作用があるのかもしれない。一方、糖尿病患者にみられる重症化した歯周病において、スダチチンが抑制的な抗炎症効果を発揮するかどうかは不明である。

本研究では、糖尿病患者において重症化した歯周病に対してスダチチンが抗炎症効果を示すかどうかを探ることを目的に、その第一段階として歯肉線維芽細胞を高グルコース条件下で培養した後にカルプロテクチンで刺激し、細胞の炎症関連因子の産生性に及ぼすスダチチンの抑制効果を検討した。

## 材料および方法

## 1. 細胞

ヒト歯肉線維芽細胞は、CRL-2014 (ATCC, USA) を用いた。培養は、10%の割合にウシ胎児血清を含むDMEMを用い、3~5代まで継代した細胞を実験に供した。また、通常のグルコース濃度 (5.5 mmol/l) を Normal glucose (NG)、高グルコース濃度 (25 mmol/l) を High glucose (HG) とした。なお浸透圧対照として、NGに19.5 mmol/lのマンニトール (MN) を添加して調製した系をMN群として実験系に加えた。

## 2. 試薬

S100A8とS100A9はATGen (Sampyeongdong, Korea) から購入し、カルプロテクチンはKwonらの方法<sup>7)</sup>に従って調製した。スダチチンは和光純薬から購入した。また、IkB $\alpha$ , p65の抗体およびおのおののリン酸化抗体はCell Signaling Technology (USA) から購入し、ウエスタンブロット法で用いた。

## 3. 歯肉線維芽細胞の増殖活性に及ぼすスダチチンの影響の検討

細胞の増殖活性は通法に従い、MTT [3-(4,5-dimethyl-thiazole-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide] (Sigma-Aldrich, USA) 法を用いて測定した<sup>2)</sup>。すなわち、細胞を96穴プレートに $1.0 \times 10^4$ 個/96 wellの密度になるように播種し、その24時間後にスダチチン (0~15  $\mu$ mol/l) を添加した。その後、24~48時間培養し、MTTを最終濃度0.5 mg/mlになるように添加した。細胞の増殖活性は、MTTを吸収して青褐色のホルマザンを形成した細胞をDMSOで溶解した後、吸光度計 (Bio-Rad, 測定波長: 595 nm) を用いて溶解液の発色程度を測定して調べた。

## 4. 炎症関連因子の産生性の検討

ヒト歯肉線維芽細胞を上記3条件 (NG, HG, MN) で培養した後、カルプロテクチン (50 nmol/l) で24時間刺激した後の培養上清を回収し、市販のELISAキット (R & D, USA) を用いてIL-6, Monocyte chemotactic protein (MCP)-1, MMP-1およびTissue inhibitor of MMP (TIMP)-1の産生動態を調べた。また、カルプロテクチンによる上記4種の炎症関連因子の産生誘導におけるスダチチンの抑制効果を調べるために、10  $\mu$ mol/lのスダチチンをカルプロテクチン刺激の1時間前に添加した実験系も併せて検討した。

## 5. 細胞内シグナル伝達系の検討

ヒト歯肉線維芽細胞を上記3条件 (NG, HG, MN) で培養し、カルプロテクチン (50 nmol/l) で30分間刺激した後、全細胞タンパクを回収し、通法に従ってウエス

タンブロット法によって I $\kappa$ B $\alpha$  および p65 のリン酸化動態を調べた。なお、リン酸化分子は、ルミノイメーリアライザー (ImageQuant LAS500, GE ヘルスケアジャパン) を使用して検出した。また、カルプロテクチンによる I $\kappa$ B $\alpha$  および p65 のリン酸化誘導におけるスダチチンの抑制効果を調べるために、10  $\mu$ mol/l のスダチチンをカルプロテクチンで処理する 1 時間前に添加した実験系も併せて検討した。なお、リン酸化した I $\kappa$ B $\alpha$  および p65 の強度は、ImageJ ソフトウェア (ver. 1.53a, NIH, USA) を用いて各バンドの黒化度を測定した後、対照の I $\kappa$ B $\alpha$  および p65 の黒化度の値で除した数値によって評価した。

## 6. 統計解析

各群における有意差の有無は、統計解析ソフト JMP 8.0.2 (SAS Institute, USA) を用いて ANOVA Tukey-HSD test および Student's *t*-test によって解析し、*p* 値が 0.05 未満を有意差ありと判定した。

## 結 果

### 1. スダチチンによる細胞障害作用の検討

スダチチンは、0, 1, 5, 10, 15  $\mu$ mol/l で歯肉線維芽細胞を刺激して 24 時間および 48 時間培養した後の細胞増殖活性に影響を及ぼさなかった (ANOVA-Tukey HSD 検定, Fig. 1C)。

### 2. カルプロテクチン誘導性炎症関連因子の産生におけるスダチチンの影響

Fig. 2 に示すように、カルプロテクチンは歯肉線維芽細胞の MCP-1 および IL-6 の産生を劇的に誘導した ( $p < 0.0001$ , Student's *t*-test)。また、HG 条件下で培養した歯肉線維芽細胞においては、対照群と比較してカルプロテクチン誘導性の MCP-1 産生は有意に亢進したが IL-6 の産生に群間の有意差は認めなかった (MCP-1 :  $p = 0.016$ , vs. NG,  $p = 0.023$ , vs. MN ; IL-6 :  $p = 0.064$ , vs. NG,  $p = 0.65$ , vs. MN, Student's *t*-test)。また、カルプロテクチンによって誘導された MCP-1 産生は、スダチチンの前処理によって有意に抑制されたが IL-6 の産生は抑制されなかった (MCP-1 : NG,  $p < 0.0001$ , HG,  $p < 0.0001$ , MN,  $p = 0.0002$  ; IL-6 : NG,  $p = 0.81$ , HG,  $p = 0.57$ , MN,  $p = 0.16$ , Student's *t*-test)。

次に、Fig. 3 に示すように、カルプロテクチンは歯肉線維芽細胞の MMP-1 産生を劇的に誘導したが TIMP-1 の産生には影響を及ぼさなかった (MMP-1 :  $p < 0.0001$  ; TIMP-1 :  $p = 0.52$ , Student's *t*-test)。また、HG 条件下で培養した歯肉線維芽細胞においては、対照群と比較してカルプロテクチン誘導性の MMP-1 産生は有意に亢進したが TIMP-1 の産生に有意差は認めなかった (MMP-

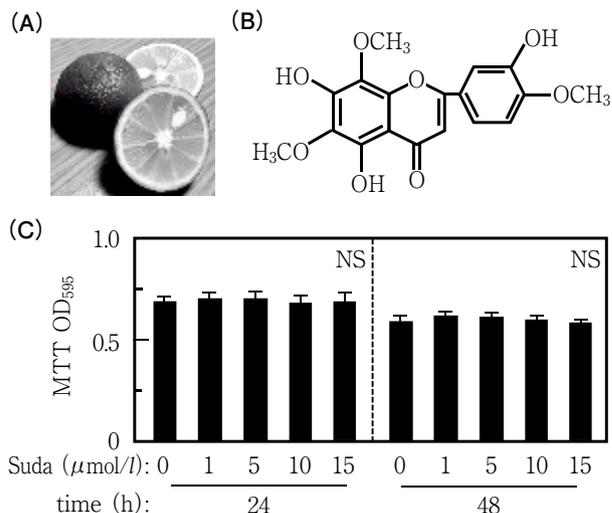


Fig. 1

(A) Image of *Citrus sudachi*. (B) Chemical structure of Sudachitin. (C) Effects of Sudachitin on cell proliferation. After HGFs were treated with Sudachitin (0-15  $\mu$ mol/l) for 24-48 h, cell proliferative activity was determined using MTT assay. Data represents as the mean  $\pm$  SD from 3 independent experiments. Suda, Sudachitin. NS, not significant differences, ANOVA Tukey-HSD.

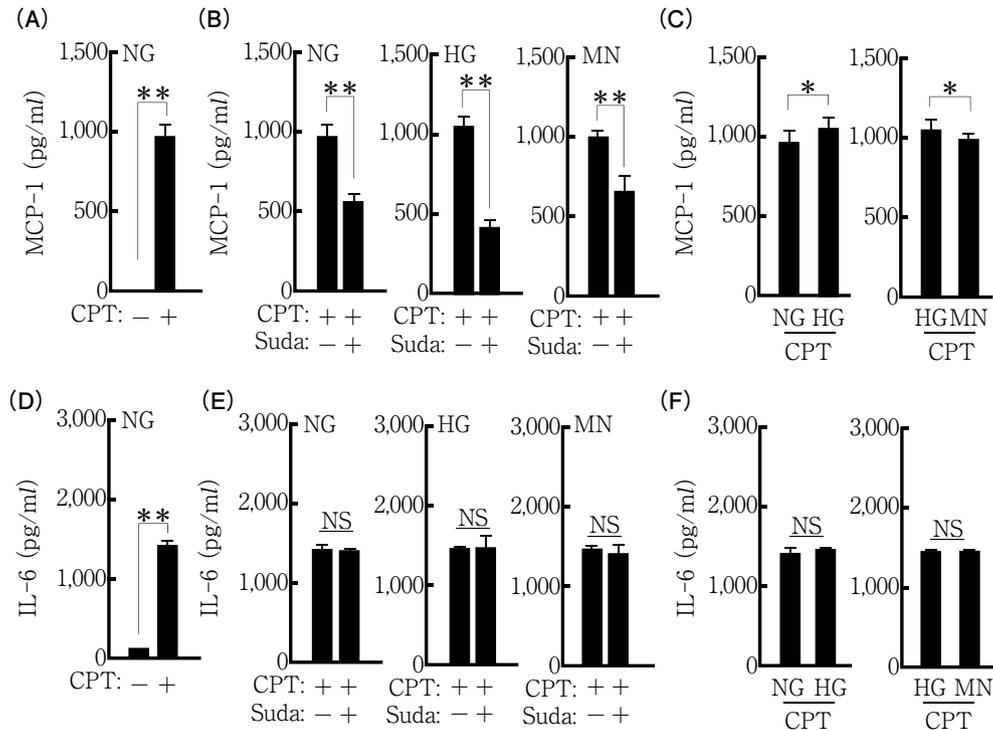
1 :  $p < 0.0001$ , vs. NG,  $p = 0.0002$ , vs. MN ; TIMP-1 :  $p = 0.67$ , vs. NG,  $p = 0.44$ , vs. MN, Student's *t*-test)。また、カルプロテクチンによって誘導された MMP-1 産生はスダチチンの前処理によって有意に抑制されたが、TIMP-1 の産生には変化はみられなかった (MMP-1 : NG,  $p < 0.0001$ , HG,  $p < 0.0001$ , MN,  $p = 0.0002$  ; TIMP-1 : NG,  $p = 0.92$ , HG,  $p = 0.59$ , MN,  $p = 0.82$ , Student's *t*-test)。

### 3. カルプロテクチン誘導性細胞内シグナル伝達系におけるスダチチンの影響

カルプロテクチンは、歯肉線維芽細胞の p65 および I $\kappa$ B $\alpha$  のリン酸化を著明に誘導した (Fig. 4A)。また HG 条件下で培養した歯肉線維芽細胞をカルプロテクチンで刺激すると、対照群と比較して p65 および I $\kappa$ B $\alpha$  のリン酸化がさらに亢進した。一方、NG および HG 条件下で培養した歯肉線維芽細胞のカルプロテクチン誘導性の p65 および I $\kappa$ B $\alpha$  のリン酸化は、スダチチンの前処理によってともに著明に抑制された (Fig. 4B)。

## 考 察

歯周病は糖尿病の慢性合併症の一つである。また歯科臨床の現場において糖尿病患者の歯周病は重症化することが知られているが、その病態は不明である。これまで



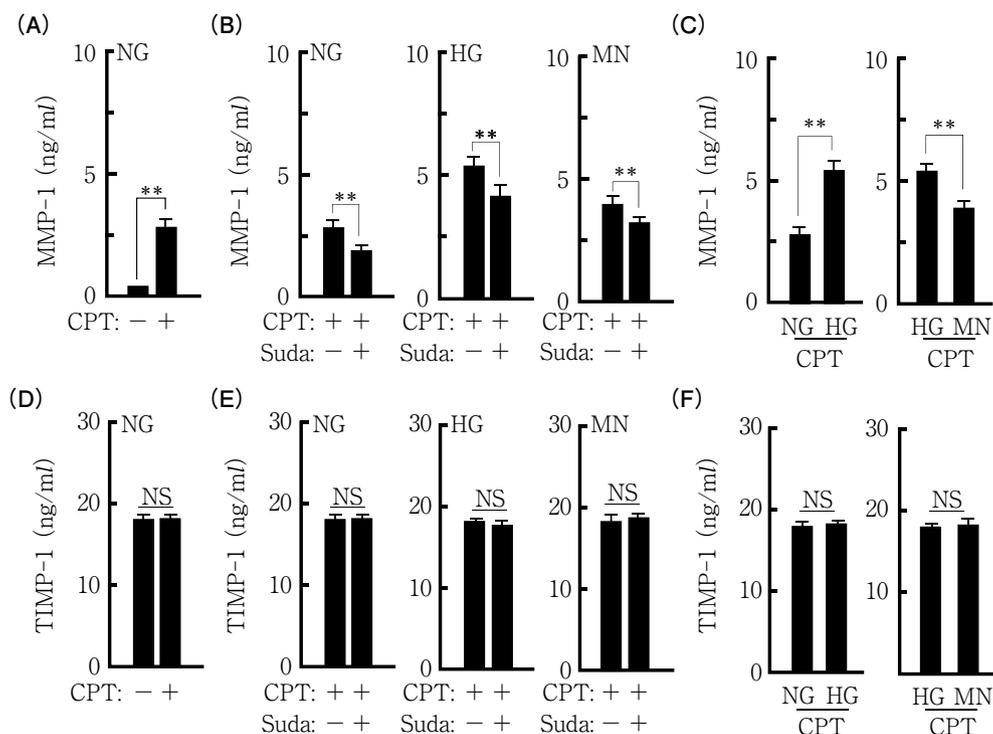
**Fig. 2** Effects of Sudachitin on calprotectin-induced MCP-1 and IL-6 production

HGFs were cultured with 25 mmol/l glucose (HG) or 5.5 mmol/l glucose (NG) condition and stimulated with calprotectin (CPT, 50 nmol/l). As an osmotic control for HG, cells were also cultured in NG medium supplemented with 19.5 mmol/l mannitol (MN). Also, HGFs were pretreated with Sudachitin (Suda, 10  $\mu$ mol/l) for 60 mins. Supernatants were collected after 24 h later, and the protein levels of target molecules (MCP-1, IL-6) were measured using ELISA Kits. Production of MCP-1 (A, B, C) and IL-6 (D, E, F). Data represents as the mean  $\pm$  SD from 4 independent experiments. \* :  $p < 0.05$ , \*\* :  $p < 0.01$ , as compared with control, Student's *t*-test.

にわれわれは、HG条件下で培養した歯肉線維芽細胞を可溶性IL-6レセプター(sIL-6R)とIL-6で共刺激すると、細胞内のextracellular signal-regulated kinase(ERK)-CCAAT/enhancer binding protein(C/EBP)シグナルが増強して、結果的にVEGF産生が促進されることを報告した<sup>8)</sup>。このことは、糖尿病患者では歯周組織への毛細血管の浸潤が促進され、著明な歯肉の発赤および腫脹が生じる機序の細胞学的エビデンスとなっている。

カルプロテクチンはS100ファミリーに属するS100A8とS100A9のヘテロダイマーであり、主に好中球によって産生される分子である<sup>9)</sup>。これまでにわれわれは、カルプロテクチンは歯周病患者の歯肉溝滲出液中において高濃度に検出されることから、その歯周病の診断マーカーとしての有用性を提唱してきた<sup>10)</sup>。さらにカルプロテクチンは、Toll様受容体4(TLR4)およびNF- $\kappa$ B経路を介して歯肉線維芽細胞のIL-6およびMCP-1の産生を誘導することも報告しており<sup>2)</sup>、これら一連の研究成果を鑑みて、カルプロテクチンは歯周病の病態形成に重

要な役割を果たす分子であると考えられる。そこで本研究では、まずカルプロテクチンが糖尿病患者の歯周病重症化を誘発する可能性があるかどうかに着目した。すなわち、糖尿病患者の歯周組織を培養系に再現するべくHG条件下で培養した歯肉線維芽細胞(HG群)をカルプロテクチンで刺激した後、IL-6、MCP-1およびコラーゲン線維を溶解するMMP-1の産生性に及ぼす影響を調べた。重要なことに、HG群では通常のグルコース濃度群(NG群)と比較してカルプロテクチンはMCP-1およびMMP-1の産生性を有意に亢進した。一方、MMP-1に阻害作用を示すTIMP-1の産生性は変化しなかった。すなわちTIMP-1産生は、カルプロテクチン誘導性TLR4シグナル経路によって制御されないと考えられる。また、TIMP-1の作用が変化しない状況にあるため、結果的にMMP-1によるコラーゲン線維の破壊がさらに増強される環境にあることも示唆された。このことは、カルプロテクチンによって誘導される糖尿病患者の歯周病重症化機序の一翼を示すものである。一方、歯周病の病態形成



**Fig. 3** Effects of Sudachitin on calprotectin-induced MMP-1 and TIMP-1 production

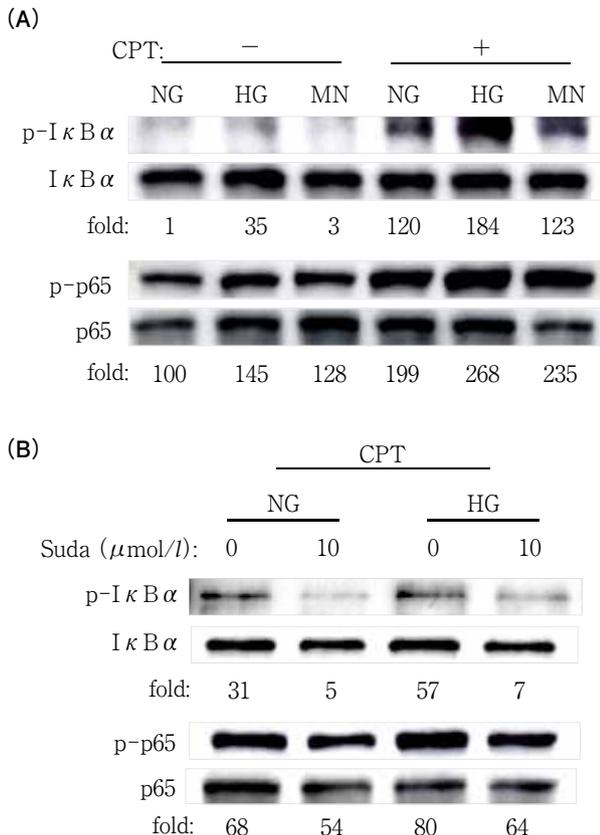
HGFs were cultured with 25 mmol/l glucose (HG) or 5.5 mmol/l glucose (NG) condition and stimulated with calprotectin (CPT, 50 nmol/l). As an osmotic control for HG, cells were also cultured in NG medium supplemented with 19.5 mmol/l mannitol (MN). Also, HGFs were pretreated with Sudachitin (Suda, 10  $\mu$ mol/l) for 60 mins. Supernatants were collected after 24 h later, and the protein levels of target molecules (MMP-1, TIMP-1) were measured using ELISA Kits. Production of MMP-1 (A, B, C) and TIMP-1 (D, E, F). Data represents as the mean  $\pm$  SD from 4 independent experiments. \*\*:  $p < 0.01$ , as compared with control; NS, not significant differences, Student's *t*-test.

に重要な役割を果たすIL-6については、われわれの以前の報告<sup>2)</sup>に相応してカルプロテクチンによる劇的な産生誘導はみられたが、HG群における有意な亢進はみられなかった。IL-6は歯周病重症化機序において、糖尿病患者に特化した作用はもたないのかもしれない。次に、カルプロテクチンによって誘導されるシグナル伝達経路に及ぼすHGの影響を調べるために、HG群におけるカルプロテクチン誘導性のNF- $\kappa$ B経路の動態を調べたところ、NG群と比較してI $\kappa$ B $\alpha$ およびp65のリン酸化が劇的に亢進された。われわれはHG群におけるIL-6シグナル伝達分子gp130の発現の増強を報告したが<sup>8)</sup>、カルプロテクチンの標的受容体である歯肉線維芽細胞のTLR4発現がHGによって増強されるかどうかは今後の研究課題である。

糖尿病患者に対する歯周病治療は歯周組織の感染源を機械的に除去するという大原則はあるものの、HbA1c値が7.0%を超える場合は観血的な治療を避ける必要性も提唱されており<sup>11)</sup>、臨床的には根治的な歯周病治療を躊躇

躇せざるをえない状況にしばしば遭遇する。そこで血糖コントロール不良の歯周病患者に対して各種薬剤の抗菌・抗炎症効果に期待する薬物療法が併用、選択されることが多い。塩酸ミノサイクリンを用いた歯周局所の抗菌療法(LDDS)はその代表例であろう。

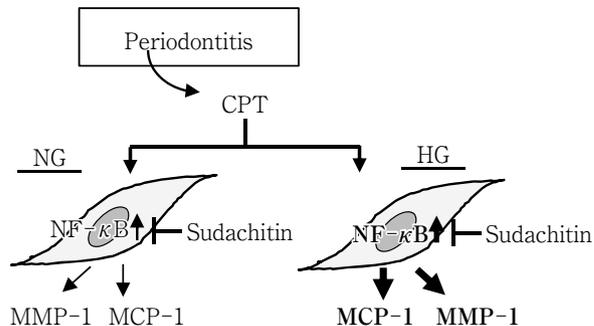
徳島県が主な産地である柑橘類のスダチは、酸味や風味が強いため減塩効果のある薬味として利用されることが多い(Fig. 1A)。スダチ果汁には疲労回復・抗酸化・美肌効果などがあるといわれ、世界的な健康志向の高まりとともにわが国の消費者にも注目されるようになってきている<sup>4)</sup>。一方、本研究で用いたスダチチンは、スダチ果皮(搾汁残渣)から抽出されるポリフェノールである(Fig. 1B)。最近、スダチチンがマクロファージを標的とした*in vitro*研究によって、誘導型一酸化窒素合成酵素(iNOS, inducible nitric oxide synthase)の産生抑制を介して抗炎症効果を有すること<sup>12)</sup>、また肥満マウスを標的とした*in vivo*研究によって血糖値改善効果を有すること<sup>6)</sup>が報告された。これらの研究成果は、歯周病および



**Fig. 4** Effects of Sudachitin on calprotectin-induced phosphorylation of p65 and IκBα

(A) HGFs were cultured with 25 mmol/l glucose (HG) or 5.5 mmol/l glucose (NG) condition and stimulated with calprotectin (CPT, 50 nmol/l) for 30 mins. As an osmotic control for HG, cells were also cultured in NG medium supplemented with 19.5 mmol/l mannitol (MN). (B) To examine the effects of Sudachitin (Suda) on CPT-induced phosphorylation of p65 and IκBα, Sudachitin (10 μmol/l) was added 60 min prior and during stimulations. Cell lysates were resolved by SDS-PAGE and analyzed using western-blotting probed with antibodies against phospho-p65 and phospho-IκBα. Equal loading of total lysates (10 μg) was confirmed by re-probing with antibodies against each molecule p65 and IκBα. This figure shows a result of representative 2 independent experiments. Quantitation of the phosphorylated protein levels was performed by densitometric scanning of each band using Image J software, and fold changes of each band were expressed as a ratio of control.

糖尿病の双方の疾患にスダチチン摂取が好影響を与える可能性を示唆するものである。そこで本研究では、スダチチンが糖尿病患者における歯周病重症化に対して抑制的な作用を示すかどうかを検討するために、HG群にお



**Fig. 5** Schematic representation of inhibitory effects of Sudachitin on calprotectin-induced progression of severe periodontitis in diabetic patients

HG enhances calprotectin (CPT)-induced production of inflammation-related molecules in HGFs, resulting in progression of severe periodontitis in diabetic patients. In addition to the usual periodontitis treatment clinically, Sudachitin intake may contribute to prevent the progression of these unwanted cascades.

けるカルプロテクチン誘導性の炎症関連因子の産生系におけるスダチチンの影響を調べることにした。まず、われわれは実験系に用いる適正なスダチチンの刺激濃度を検討した。すなわち、歯肉線維芽細胞におけるスダチチンによる細胞増殖能に及ぼす影響をMTT法によって確認したところ、スダチチンは15 μmol/l以下の濃度において細胞増殖活性になら影響を示さなかった。この結果から、本研究では10 μmol/lのスダチチンを細胞実験に用いることにした。なお、Yuasaらの研究<sup>12)</sup>ではマクロファージ様RAW264細胞に対するスダチチンの刺激濃度は30 μmol/lに設定されていたので、われわれの実験系におけるスダチチンの適用濃度はそれと比較して低濃度であったと評価される。一方、Ohyamaらの研究<sup>13)</sup>によると、10 μmol/lのスダチチンによって破骨細胞の分化が抑制されており、スダチチンの至適濃度は標的細胞によって異なる可能性が考えられた。次に、歯肉線維芽細胞においてカルプロテクチンによる炎症関連因子の産生誘導がスダチチンによって抑制されるかどうかを調べたところ、スダチチンはMCP-1およびMMP-1の産生を有意に抑制した。代表的なケモカインであるMCP-1の産生抑制は炎症性細胞の走化性・遊走性を弱めることに繋がるので、スダチチンには歯周組織への炎症性細胞浸潤を抑制する効果があると考えられた。また、MMP-1の産生抑制は結果的にコラーゲン線維の分解抑制に繋がるので、本研究結果から、スダチチンは歯周病進行による歯周組織破壊の抑制作用を有する可能性も示唆された。なお、本研究で得られた知見の正当性および

将来の臨床応用の是非は、適切な *in vivo* 研究あるいは臨床研究の実施によって検証される必要がある。また、一般的に TLR シグナルにおいて NF- $\kappa$ B 経路は中心的な役割を果たすことが知られているので、今回、カルプロテクチン誘導性の NF- $\kappa$ B 経路の増強がスダチチンによって抑制されるかどうかを調べたところ、スダチチンはその I $\kappa$ B $\alpha$  および p65 のリン酸化を著しく抑制した。われわれは、歯肉線維芽細胞における MCP-1 および MMP-1 の産生が NF- $\kappa$ B 経路によって制御されることを報告している<sup>2,3)</sup>。すなわち、歯肉線維芽細胞におけるスダチチンによるカルプロテクチン誘導性の MMP-1 および MCP-1 の産生抑制は、NF- $\kappa$ B 経路の抑制によって生じるものと推察される。スダチチンは歯根膜細胞における TNF 誘導性の NF- $\kappa$ B 経路を抑制することが報告されており<sup>14)</sup>、本研究結果もそれに相応するものであった。また、歯肉線維芽細胞において Yuasa ら<sup>12)</sup>の研究で示された iNOS を介した制御が存在するかどうかについては今後の課題である。以上のことから、スダチチンには歯周組織を構成するさまざまな細胞に対して抗炎症作用を示す可能性があり、将来、有効な薬理効果を発揮するポリフェノールとしての臨床応用が期待される。しかしながら、カルプロテクチン誘導性の IL-6 産生系においてスダチチンの抑制効果はみられなかったことから、標的分子を含めてスダチチンによる細胞作用の機序には不可解な点もある。すなわち、1. NF- $\kappa$ B 経路以外にも抑制作用を示す他のシグナル分子の存在は否定できない、2. MCP-1 や MMP-1 の産生がカルプロテクチンによる直接的なシグナルに依存するものではなく、実はカルプロテクチン誘導性の未知のサイトカインによるオートクリン的なシグナル系が併存し、スダチチンによって、その未解明のシグナルが抑制されている可能性もある。今後、スダチチンによる炎症反応の抑制機序の詳細がさらに解明・追求されることが望まれる。

一般的に、ポリフェノールは未病の段階で継続服用することで未然に疾患発症を防ぐという効能に期待する栄養素である<sup>15)</sup>。近年、ポリフェノールの成分が生化学的に分析され、その薬理機序が分子レベルで解明されるようになってきた。すなわち現代は、古くから知られてきた健康増進をもたらす栄養成分の解析が進み、それらの標的分子を絞り込むことで、これまで想定しえなかった新たな疾患に対する薬理効果が期待される時代なのかもしれない。本研究では、スダチチンは HG 条件下で培養した歯肉線維芽細胞において複数の炎症関連分子の産生を抑制することを示した (Fig. 5)。昨今、スダチチン摂取による血糖コントロールの改善効果が期待されており、さらに将来、スダチチンによる炎症制御の機序が細胞レベルで明らかになることで、糖尿病と同時に重症化

した歯周病も抑制制御しうる新たな治療コンセプトの確立および創薬技術の発展に結び付くことが期待される。

## 結 論

スダチチンは、NG 群および HG 群の歯肉線維芽細胞においてカルプロテクチン誘導性 MCP-1 および MMP-1 産生を抑制する。すなわち、スダチチンは慢性歯周炎および糖尿病患者における歯周病重症化を抑制する可能性が示唆される。

## 謝 辞

本研究の一部は、日本学術振興会科学研究費補助金研究活動スタート支援 (19K21411) および基盤研究 C (19K10131) の助成によって行われた。

本研究の遂行および本論文の作成にあたり、開示すべき一切の利益相反はない。

## 文 献

- 1) 斎藤重幸. わが国の糖尿病のトレンド. 日循予防誌 2018; 53: 211-219.
- 2) Nishikawa Y, Kajiura Y, Lew JH, Kido JI, Nagata T, Naruishi K. Calprotectin induces IL-6 and MCP-1 production via toll-like receptor 4 signaling in human gingival fibroblasts. J Cell Physiol 2017; 232: 1862-1871.
- 3) Lew JH, Naruishi K, Kajiura Y, Nishikawa Y, Ikuta T, Kido JI, Nagata T. High glucose-mediated cytokine regulation in gingival fibroblasts and THP-1 macrophage: a possible mechanism of severe periodontitis with diabetes. Cell Physiol Biochem 2018; 50: 973-986.
- 4) 新居佳孝, 岡久修己, 高田次郎, 三野幸人, 敷島康普. スダチ果皮抽出物のスダチチン量と抗酸化活性. 徳島県立工業技術センター研究報告 2014; 23: 15-19.
- 5) Durazzo A, Lucarini M, Souto EB, Cicala C, Caiazza E, Izzo AA, Novellino E, Santini A. Polyphenols: A concise overview on the chemistry, occurrence, and human health. Phytother Res 2019; 33: 2221-2243.
- 6) Tsutsumi R, Yoshida T, Nii Y, Sakai T. Sudachitin, a polymethoxylated flavone, improves glucose and lipid metabolism by increasing mitochondrial biogenesis in skeletal muscle. Nutrition & Metabolism 2014; 11: 32-45.
- 7) Kwon CH, Moon HJ, Park HJ, Choi JH, Park do Y. S100A8 and S100A9 promotes invasion and migration through p38 mitogen-activated protein kinase-dependent NF- $\kappa$ B activation in gastric cancer cells. Mol Cells 2013; 35: 226-234.
- 8) Omori K, Naruishi K, Nishimura F, Yamada-Naruishi H,

- Takashiba S. High glucose enhances interleukin-6-induced vascular endothelial growth factor 165 expression via activation of gp130-mediated p44/42 MAPK-CCAAT/enhancer binding protein signaling in gingival fibroblasts. *J Biol Chem* 2004; 279: 6643-6649.
- 9) Shabani F, Farasat A, Mahdavi M, Gheibi N. Calprotectin (S100A8/S100A9): a key protein between inflammation and cancer. *Inflamm Res* 2018; 67: 801-812.
  - 10) Kajiura Y, Lew JH, Ikuta T, Nishikawa Y, Kido JI, Nagata T, Naruishi K. Clinical significance of GCF sIL-6R and calprotectin to evaluate the periodontal inflammation. *Ann Clin Biochem* 2017; 54: 664-670.
  - 11) 特定非営利法人日本歯周病学会. 糖尿病患者に対する歯周治療ガイドライン. 改訂第2版. 医歯薬出版: 東京; 2014.
  - 12) Yuasa K, Tada K, Harita G, Fujimoto T, Tsukayama M, Tsuji A. Sudachitin, a polymethoxyflavone from *Citrus sudachi*, suppresses lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in mouse macrophage-like RAW264 cells. *Biosci Biotechnol Biochem* 2012; 76: 598-600.
  - 13) Ohyama Y, Ito J, Kitano VJ, Shimada J, Hakeda Y. The polymethoxy flavonoid sudachitin suppresses inflammatory bone destruction by directly inhibiting osteoclastogenesis due to reduced ROS production and MAPK activation in osteoclast precursors. *PloS One* 2018; 13: e0191192.
  - 14) Hosokawa Y, Hosokawa I, Ozaki K, Matsuo T. Sudachitin inhibits matrix metalloproteinase-1 and 3 production in tumor necrosis factor- $\alpha$ -stimulated human periodontal ligament cells. *Inflammation* 2019; 42: 1456-1462.
  - 15) Naruishi K. Carotenoids and periodontal infection. *Nutrients* 2020; 12: 269.

## Inhibitory Effects of Sudachitin on the Production of Inflammation-related Molecules in Human Gingival Fibroblasts Cultured under High Glucose Conditions

NISHIKAWA Yasufumi, NARUISHI Koji<sup>1</sup>,  
KIDO Jun-ichi<sup>2</sup> and YUMOTO Hiromichi<sup>2</sup>

Department of Oral Implant Center, Tokushima University Hospital

<sup>1</sup>Department of Periodontics, Tokushima University Hospital

<sup>2</sup>Department of Periodontology and Endodontology, Tokushima University Graduate School of Biomedical Sciences

### Abstract

**Purpose:** Diabetic patients are susceptible to severe periodontitis. Sudachitin, which is a polymethoxyflavone derived from the peel of *Citrus sudachi*, possesses antioxidant properties. The purpose of this study was to explore the biological activities of Sudachitin on severe periodontitis in diabetic patients by targeting human gingival fibroblasts (HGFs) cultured under high glucose (HG) conditions.

**Methods:** HGF cell line CRL-2014 (ATCC) was maintained in DMEM containing 5.5 mmol/l glucose (normal glucose condition, NG) or 25 mmol/l glucose (HG), and cells were stimulated with calprotectin. To investigate the productivity of MCP-1, IL-6, MMP-1 and TIMP-1 after calprotectin stimulation, cell supernatants were collected for enzyme-linked immunosorbent assay. Next, total cell lysates were collected for western-blotting in order to investigate the NF- $\kappa$ B signaling after calprotectin stimulation. To examine the effects of Sudachitin on the production of inflammation-related molecules or NF- $\kappa$ B signaling, Sudachitin was added 60 min prior to the calprotectin stimulation.

**Results:** Calprotectin increased MCP-1, IL-6 and MMP-1 production significantly in HGFs. HG enhanced significantly calprotectin-induced production of MCP-1 and MMP-1, but not IL-6. Sudachitin suppressed calprotectin-induced MCP-1 and MMP-1 production in HGFs cultured with both NG and HG significantly. Sudachitin also inhibited dramatically the calprotectin-induced I $\kappa$ B $\alpha$  and p65 phosphorylation.

**Conclusion:** HG enhances calprotectin-induced production of MCP-1 and MMP-1 in HGFs. Sudachitin suppresses MCP-1 and MMP-1 production in HGFs via the NF- $\kappa$ B pathway. Sudachitin might be a useful polyphenol for severe periodontitis in diabetic patients.

**Key words:** diabetes mellitus, periodontitis, Sudachitin, calprotectin, gingival fibroblasts

## ニッケルチタン製ロータリーファイルのテーパーが回転疲労耐性に与える影響

福 森 洋 平 中 務 太 郎\* 牧 圭 一 郎\*  
木 村 俊 介\* 海 老 原 新\* 興 地 隆 史\*  
杉 崎 順 平

虎の門病院歯科

\*東京医科歯科大学 (TMDU) 大学院医歯学総合研究科 医歯学系専攻 口腔機能再構築学講座 歯髄生物学分野

## 抄録

目的：動的回転疲労試験により、ニッケルチタン製ロータリーファイルの回転疲労破折抵抗性に対するテーパーの影響を解析することを目的とした。

材料と方法：被験ファイルはすべて先端径 0.25 mm、長さ 25 mm とし、先端のテーパーで実験群を 3 群に分けた (各群 n=10)。すなわち、0.04 テーパーと 0.06 テーパーの器具として Vortex Blue (Dentsply Sirona) を採用し、それぞれ VB 0.04 群、VB 0.06 群とした。また、0.08 テーパーの器具には ProTaper Gold F2 (Dentsply Sirona) を採用し、PTG 0.08 群とした。試験用の人工根管模型には曲率半径 3 mm、曲げ角度 60° のステンレス鋼製の模型を使用した。自作の動的回転疲労試験機を使用し、上下動速度 50 mm/min、振幅 1 mm、ファイルの回転速度はメーカー推奨値の条件にて根管内でファイルを回転させた。ファイルが根管模型内を摩擦抵抗なく回転するようシリコンオイルを使用した。破断までの時間をストップウォッチにて計測し、これに回転速度を乗じた値を破断までの回転数 (NCF) とした。また、破断片の長さを電子ノギスで計測した。各群の NCF と破断片の長さを Kruskal-Wallis 検定で解析後、Steel-Dwass 検定にて多重比較を行った (有意水準 5%)。

成績：VB 0.04 群の NCF は VB 0.06 群、PTG 0.08 群の NCF と比較し有意に大きくなった ( $p < 0.05$ )。VB 0.06 群の NCF は PTG 0.08 群の NCF と比較し有意差を認めなかった ( $p > 0.05$ )。VB 0.04 群の破断片の長さは VB 0.06 群と比較し有意に短い値となったが ( $p < 0.05$ )、他の群間比較ではいずれも有意差を認めなかった。

結論：本研究の条件下では、Vortex Blue 間の比較では 0.06 テーパーに比べ 0.04 テーパーが有意に高い動的回転疲労抵抗性を示したが、ProTaper Gold F2 の動的回転疲労抵抗性は 0.06 テーパーの Vortex Blue と同等であった。

キーワード：動的回転疲労耐性、ニッケルチタン製ロータリーファイル、テーパー

責任著者連絡先：福森洋平

〒105-0001 東京都港区虎ノ門2-2-2 虎の門病院歯科

TEL : 03-3588-1111, FAX : 03-3582-7068, E-mail : yohei-f@toranomom.gr.jp

受付：2020年9月14日/受理：2020年10月30日

DOI : 10.11471/shikahozon.63.512

## 緒 言

ニッケルチタン製ロータリーファイル（以下、NiTi ファイル）は手用ステンレスファイルに比べ、高い柔軟性や切削効率などの多くの利点があり広く普及している<sup>1-3)</sup>。しかしながら、湾曲した根管での形成時はファイルが破折するリスクを有しており、根管治療の予後を損なうことも示唆されている<sup>4)</sup>。

NiTi ファイルは熱処理を加えることで曲げ剛性が低くなり、回転疲労抵抗性が高くなることが報告されている<sup>5-7)</sup>。また、曲げ剛性が低くなると根管形成能も向上することもすでに報告されている<sup>8,9)</sup>。そのため、熱処理を加えたワイヤーを用いたさまざまな種類の NiTi ファイルが開発されている<sup>10)</sup>。Vortex Blue (Dentsply Sirona, Switzerland)、ProTaper Gold (Dentsply Sirona) は、加工された NiTi ファイルに複雑な過程の熱処理を加え、その表層にそれぞれ青色もしくは金色の酸化チタン層を形成させて製作されており、その機械的特性が従来のファイルと比較し向上していることが報告されている<sup>11,12)</sup>。

前述したように新製品が開発、または改良されるごとに、それぞれ従来の NiTi ファイルと機械的特性の比較が行われてきた。この際、回転疲労抵抗性の解析は多くの場合静的回転疲労試験で行われており、動的回転疲労試験の報告は少ない<sup>13)</sup>。動的回転疲労試験は、臨床上の NiTi ファイルの動作を模し、ファイルを上下方向に動かしながら回転疲労試験を行う方法であり、静的回転疲労試験と比較して、根管内をファイルが常時根管の長軸方向に往復運動するため、圧縮応力と引っ張り応力の集中が避けられ、破折抵抗が増加するとされている<sup>14)</sup>。すでに著者らは、テーパーの差異が NiTi ファイルの機械的特性に与える影響について静的回転疲労試験を行い、テーパーの増加により回転疲労抵抗性が低下することを報告した<sup>9)</sup>。一方で著者らの知るかぎり、テーパーの差異に注目し動的回転疲労試験を行った報告はない。そこで、本研究ではさまざまなテーパーを有したファイルを用いて、自作の動的回転疲労試験機を使用し、動的回転疲労抵抗性の差異を解析することを目的とした。帰無仮説は「被験ファイル間で回転疲労抵抗に差異はない」とした。

## 材料および方法

本実験には、Vortex Blue（先端径 0.25 mm, 0.04 テーパー、および先端径 0.25 mm, 0.06 テーパー）、および ProTaper Gold F2（先端径 0.25 mm, 0.08 テーパー）の

3種の NiTi ファイルを使用し、それぞれ VB 0.04 群、VB 0.06 群および PTG 0.08 群とした。Vortex Blue は断面形態は三角形で、先端から一定のテーパーが付与されている。ProTaper Gold F2 については、断面形態は各辺が凸面の三角形であり、テーパーは先端から 3 mm が 8% で、同部からは基部に向かうに従い徐々に小さくなる可変テーパーの設計が採用されている。各群とも使用したファイルの長さは 25 mm とし、目視でファイルの変形がないことを確認した。

動的回転疲労試験を行うにあたり、自作の試験機<sup>15)</sup>を使用した (Fig. 1)。モーターには X-Smart Plus (Dentsply Sirona) を使用し、試験機に固定したハンドピースが 50 mm/min の速度で振幅 1 mm の往復上下運動を行うよう設定した。試験用の人工根管模型として根管幅径 1.5 mm、根管長 15 mm、曲率半径 3 mm、曲げ角度 60° のステンレス鋼製の模型を使用し、ファイルの位置は根管模型の先端を開始の位置とした (Fig. 2)。ファイルの回転速度は各ファイルのメーカー推奨の速度 (VB 0.04 群、VB 0.06 群では 500 rpm、PTG 0.08 群では 300 rpm) とした。破断までの時間を目視および破断音の発生を指標としてストップウォッチ (Alba Picco Multi Timer, セイコーウォッチ) で計測し、この値に各群の回転速度を乗じた値を破断までの回転数 (number of cycles to failure, 以下、NCF) とした。ファイルが根管模型内を摩擦抵抗なく回転するようシリコンオイル (KF-96-100CS, 信越化学) を使用した。またファイルの先端と破断面までの破断片の長さを電子ノギス (Digital Vernier Caliper, シンワ測定) で計測した。

各群の NCF および破断片の長さの中央値を Kruskal-Wallis 検定によって分析し、Steel-Dwass 検定により多重比較を行い、有意水準 5% で解析した。

## 結 果

各群の NCF および破断片の長さを、Fig. 3, 4 に示す。Steel-Dwass 検定による各群間の比較で VB 0.04 群の NCF は VB 0.06 群、PTG 0.08 群の NCF と比較し有意に大きくなった。VB 0.06 群の NCF は、PTG 0.08 群の NCF と比較し有意な差を認めなかった。

破断片の長さの比較では、VB 0.04 群の破断片の長さは VB 0.06 群の破断片の長さと比較し有意に短い値となった。他群間の比較では、いずれの群間でも有意差を認めなかった。

## 考 察

本実験はファイルの種類およびテーパーを変え、動的



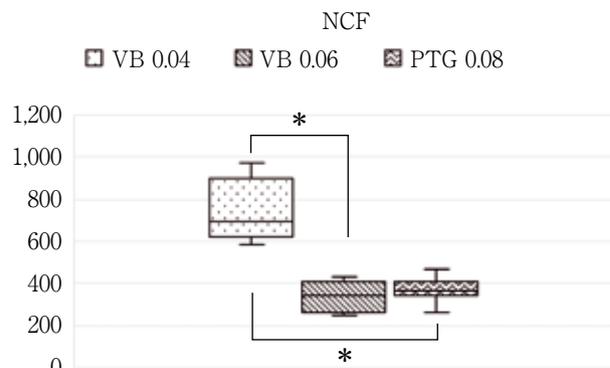
**Fig. 1** Custom-made dynamic cyclic fatigue testing device used in the present study



**Fig. 2** Artificial canal used in the present study

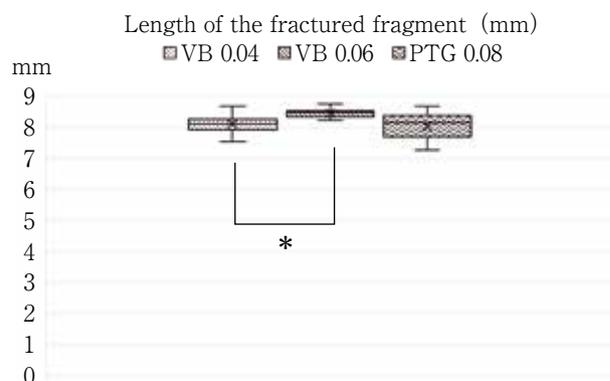
回転疲労抵抗性を比較した。得られた結果より、本研究の帰無仮説は棄却された。

NiTi ファイルの回転疲労耐性に関して、その試験法は確立されていない。とりわけ模擬根管については、その種類・曲率半径・曲げ角度などのさまざまな因子の影響を考慮する必要がある<sup>13,16</sup>。特に湾曲角度については、本研究では 60° の人工根管を採用したが、この角度は NiTi ファイルの回転疲労抵抗性の評価に適切なものとして多くの先行研究で採用されている<sup>16</sup>。60° の湾曲は、臨床で遭遇する根管の湾曲角度としては比較的大きいが<sup>17</sup>、湾曲角度 30° では根管内で被験ファイルに十分な負荷がかからず、また 90° では負荷が強すぎることを報



**Fig. 3** The number of cycles to failure (NCF) of the tested instruments during dynamic cyclic fatigue testing

\* indicates a significant difference in NCF ( $p < 0.05$ ).



**Fig. 4** Length of the fractured fragment (mm) of the tested instruments

\* indicates a significant difference in the length of the fractured fragment ( $p < 0.05$ ).

告されている<sup>18</sup>。

動的回転疲労試験の利点として、ファイルを上下動させることでベッキングモーションを再現できるため、臨床の状況に近似した条件で回転疲労抵抗性の評価が可能であることが挙げられる<sup>19</sup>。本研究では、この利点を重視して動的回転疲労試験を採用した。本試験では、根管内で繰り返される長軸方向の往復運動により、特定の部位への応力の集中が避けられることから、静的回転疲労試験と比較して破断までの時間や NCF が増加することが報告されており<sup>15</sup>、これがファイル破折を避けるうえで、ベッキングモーションが有用であることの根拠の一つとなっている。

一方、動的回転疲労試験においては、ファイルの振幅や上下動速度など、静的回転疲労試験と比較して実験条件の規格化のため多くの因子の影響を考慮する必要がある<sup>13</sup>。また、動的回転疲労試験では湾曲根管内でファイルの軌道が変動する可能性が示されており<sup>20</sup>、条件の厳

密な規格化を図るうえで考慮すべきである<sup>21)</sup>。動的回転疲労試験において、被験ファイルが異なる曲げモーメントを受けると軌道が変化すること<sup>22)</sup>、あるいは合金の種類、テーパーが変わると曲げ剛性が変化することも示されている<sup>23)</sup>。本研究では、VB 0.04 群の破断片の長さはVB 0.06 群の破断片の長さと比較し有意に短い値となったが、ほかの群間比較ではいずれも破断したファイルの長さの中央値に有意な差を認めなかった。したがって、VB 0.04 群と VB 0.06 群間を除き、被験ファイルはいずれも最大の曲げ応力を負荷された位置がほぼ同じで、湾曲根管内的軌道の差異は生じていないことが示唆された。このことは、すでに報告されている同様の研究の結果と一致している<sup>24-26)</sup>。いずれにしても、本研究の結果については、これらの本試験法の特徴を考慮したうえで解釈すべきと思われる。

本実験ではファイルの振幅を1 mmとした。ベッキングモーションの振幅について明確な指標は、これまでのところ存在しない。動的回転疲労試験において振幅が小さくなると、ファイルへの負荷が大きくなることがすでに報告されている<sup>20)</sup>。そのため、本実験の振幅の条件は比較的厳しいと考えられる。また上下動速度については、その増加によりファイルに加わるトルクや荷重が増加傾向を示すことを著者らは確認している<sup>27)</sup>。今回は、動的回転疲労試験を用いた先行研究<sup>15)</sup>とほぼ同等の条件として、著者らの先行研究における中等度の条件を採用した。一方で、実際に臨床で使用する際はファイルの上下方向の動作は手動で制御され、その振幅・速度ともに変化しやすいと思われる。本研究では、単一かつ可及的に規格化された条件で回転疲労試験を実施することで、器具間で客観的な比較を行うことを目的としたが、単一の条件で臨床的状況がどの程度説明されるかについては、検討の余地が残されている。

本実験では、Vortex Blue のファイル2群と ProTaper Gold のファイル1群で実験群を構成した。前述したように、ProTaper Gold は可変テーパーを採用している。一方で可変テーパーのファイルを用い回転疲労試験を行い、テーパーの影響を解析するのは好ましくないことが示唆されている<sup>28)</sup>。われわれの知るかぎりでは可変テーパーのファイルを使用し、テーパーの影響を論じた報告は少ない。そのため、本実験ではテーパーだけの異なる同種のファイルの比較をしたうえで、可変テーパーのファイルとも比較検証した。

本実験の結果より、同種のファイルを使用した VB 群と比較すると、VB 0.04 群の NCF は VB 0.06 群の NCF と比べて有意に大きな値となった。従来型 NiTi 合金製ファイルに対する動的回転疲労試験において、テーパーが増加すると破折抵抗が減少することが報告されてお

り<sup>19)</sup>、本研究の結果はこれを支持するものである。製造者によると、Vortex Blue は K ファイルで穿通を確認後、根管の太さに応じて先端径 0.3 mm もしくは 0.4 mm のいずれも 0.04 テーパーのファイルを最初に用い、以後クラウンダウン法で形成する方法が指定されており、0.06 テーパーのファイルは根管上部で根管の湾曲を軽減させるために使用するよう推奨されている<sup>29)</sup>。本研究の結果を鑑み、この方法は根尖部の湾曲による回転疲労破折の回避の意味で、合理的と考えることができる。また、根管形成器具のテーパーを小さくすることで歯の破折抵抗が大きくなることも報告されており<sup>30)</sup>、この意味でも 0.04 テーパーの器具の使用は有利と思われる。

VB 0.06 群と PTG 0.08 群との NCF に有意差を認めなかったが、この結果はすでに報告されている結果と同様であった<sup>30)</sup>。また、VB 0.04 群の NCF は PTG 0.08 群に比べ有意に大きな値となった。ProTaper Gold は可変テーパーを採用しており、破断した先端から 8 mm 付近の F2 のテーパーは約 5%、直径は 0.78 mm 程度である<sup>31)</sup>。Vortex Blue は先端径 0.25 mm で先端から一定のテーパーのため、VB 0.04 群の先端から 8 mm の直径は 0.57 mm、VB 0.06 群は 0.73 mm とそれぞれ計算できる。回転疲労抵抗に影響を与える因子として、テーパー以外にファイルの直径、断面形態、回転様式、合金の種類などが挙げられる<sup>32-34)</sup>。VB 0.04 群で PTG 0.08 群と比べて NCF が有意に大きかったことについては、主として VB 0.04 群の直径、テーパーが小さいことが関与していると思われるが、両群間での合金の相違も関与していると思われる。

NiTi ファイルの破折の主因の一つとして、ファイルへの過剰なトルク負荷を原因とするねじり疲労破折を挙げることができる<sup>35)</sup>。この種の破折様式では回転疲労破折と異なり、テーパーが小さい器具において破折抵抗性が小さくなる<sup>36)</sup>。テーパーが小さい器具が高い回転疲労破折抵抗性を有することは本研究結果が示すとおりであるが、これらの器具の臨床応用に際しては、適切なトルクコントロール下で用いるなどの対応により、ねじり疲労破折のリスクを低減させる配慮が必要である。

## 結 論

本研究の条件下では、Vortex Blue では 0.06 テーパーに比べ 0.04 テーパーが有意に高い動的回転疲労抵抗性を示したが、ProTaper Gold F2 の動的回転疲労抵抗性は 0.06 テーパーの Vortex Blue と同等であった。

本研究の一部は、2018 年度虎の門病院院内研究費助成（受付番号 9）の補助を受けた。

本研究に関連し、申告すべき利益相反関係にある団体等はありません。

## 文 献

- 1) Short JA, Morgan LA, Baumgartner JC. A comparison of canal centering ability of four instrumentation techniques. *J Endod* 1997; 23: 503-507.
- 2) Nakagawa RK, Alves JL, Bueno VT, Bahia MG. Flexibility and torsional behaviour of rotary nickel-titanium PathFile, RaCe ISO 10, Scout RaCe and stainless steel K-File hand instruments. *Int Endod J* 2014; 47: 290-297.
- 3) Krajczár K, Varga E, Marada G, Jeges S, Tóth V. Comparison of working length control consistency between hand K-files and Mtwo NiTi rotary system. *J Clin Exp Dent* 2016; 8: e136-140.
- 4) Ankrum MT, Hartwell GR, Truitt JE. K3 endo, ProTaper, and ProFile systems: Breakage and distortion in severely curved roots of molars. *J Endod* 2004; 30: 234-237.
- 5) Pereira ES, Gomes RO, Leroy AM, Singh R, Peters OA, Bahia MG, Bueno VT. Mechanical behavior of M-Wire and conventional NiTi wire used to manufacture rotary endodontic instruments. *Dent Mater* 2013; 29: e318-324.
- 6) Pérez-Higueras JJ, Arias A, de la Macorra JC. Cyclic fatigue resistance of K3, K3XF, and Twisted File nickel-titanium files under continuous rotation or reciprocating motion. *J Endod* 2013; 39: 1585-1588.
- 7) Braga LC, Faria Silva AC, Bueno VT, de Azevedo Bahia MG. Impact of heat treatments on the fatigue resistance of different rotary nickel-titanium instruments. *J Endod* 2014; 40: 1494-1497.
- 8) El Batouty KM, Elmallah WE. Comparison of canal transportation and changes in canal curvature of two nickel-titanium rotary instruments. *J Endod* 2011; 37: 1290-1292.
- 9) Fukumori Y, Nishijyo M, Tokita D, Miyara K, Ebihara A, Okiji T. Comparative analysis of mechanical properties of differently tapered nickel-titanium endodontic rotary instruments. *Dent Mater J* 2018; 37: 667-674.
- 10) Zupanc J, Vahdat-Pajouh N, Schäfer E. New thermomechanically treated niti alloys—a review. *Int Endod J* 2018; 51: 1088-1103.
- 11) Plotino G, Grande NM, Cotti E, Testarelli L, Gambarini G. Blue treatment enhances cyclic fatigue resistance of vortex nickel-titanium rotary files. *J Endod* 2014; 40: 1451-1453.
- 12) Silva EJ, Muniz BL, Pires F, Belladonna FG, Neves AA, Souza EM, De-Deus G. Comparison of canal transportation in simulated curved canals prepared with protaper universal and protaper gold systems. *Restor Dent Endod* 2016; 41: 1-5.
- 13) Hülsmann M, Donnermeyer D, Schäfer E. A critical appraisal of studies on cyclic fatigue resistance of engine-driven endodontic instruments. *Int Endod J* 2019; 52: 1427-1445.
- 14) Rodrigues RC, Lopes HP, Elias CN, Amaral G, Vieira VT, De Martin AS. Influence of different manufacturing methods on the cyclic fatigue of rotary nickel-titanium endodontic instruments. *J Endod* 2011; 37: 1553-1557.
- 15) Thu M, Ebihara A, Maki K, Miki N, Okiji T. Cyclic fatigue resistance of rotary and reciprocating nickel-titanium instruments subjected to static and dynamic tests. *J Endod* 2020; 46: 1752-1757.
- 16) Ferreira F, Adeodato C, Barbosa I, Aboud L, Scelza P, Zaccaro Scelza M. Movement kinematics and cyclic fatigue of niti rotary instruments: A systematic review. *Int Endod J* 2017; 50: 143-152.
- 17) Schäfer E, Diez C, Hoppe W, Tepel J. Roentgenographic investigation of frequency and degree of canal curvatures in human permanent teeth. *J Endod* 2002; 28: 211-216.
- 18) Vadhana S, SaravanaKarthikeyan B, Nandini S, Velmurugan N. Cyclic fatigue resistance of RaCe and Mtwo rotary files in continuous rotation and reciprocating motion. *J Endod* 2014; 40: 995-999.
- 19) Yao JH, Schwartz SA, Beeson TJ. Cyclic fatigue of three types of rotary nickel-titanium files in a dynamic model. *J Endod* 2006; 32: 55-57.
- 20) Li UM, Lee BS, Shih CT, Lan WH, Lin CP. Cyclic fatigue of endodontic nickel titanium rotary instruments: Static and dynamic tests. *J Endod* 2002; 28: 448-451.
- 21) Plotino G, Grande NM, Mazza C, Petrovic R, Testarelli L, Gambarini G. Influence of size and taper of artificial canals on the trajectory of NiTi rotary instruments in cyclic fatigue studies. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2010; 109: e60-66.
- 22) Kaval ME, Capar ID, Ertas H. Evaluation of the cyclic fatigue and torsional resistance of novel nickel-titanium rotary files with various alloy properties. *J Endod* 2016; 42: 1840-1843.
- 23) Oh S, Kum KY, Cho K, Lee SH, You SH, Go J, Jeon BK, Kim SW, Kim TH, Jang JH, Perinpanayagam H, Kim JW, Chang SW. Torsional and bending properties of V Taper 2H, ProTaper NEXT, NRT, and One Shape. *Biomed Res Int* 2019; 2019: 6368958.
- 24) Gambarini G, Grande NM, Plotino G, Somma F, Garala M, De Luca M, Testarelli L. Fatigue resistance of engine-driven rotary nickel-titanium instruments produced by new manufacturing methods. *J Endod* 2008; 34: 1003-1005.
- 25) Grande NM, Plotino G, Silla E, Pedulla E, DeDeus G, Gambarini G, Somma F. Environmental temperature drastically affects flexural fatigue resistance of nickel-ti-

- tanium rotary files. *J Endod* 2017; 43: 1157-1160.
- 26) Özyürek T, Keskin NB, Furuncuoğlu F, İnan U. Comparison of cyclic fatigue life of nickel-titanium files: An examination using high-speed camera. *Restor Dent Endod* 2017; 42: 224-231.
- 27) Maki K, Ebihara A, Kimura S, Nishijo M, Tokita D, Okiji T. Effect of different speeds of up-and-down motion on canal centering ability and vertical force and torque generation of nickel-titanium rotary instruments. *J Endod* 2019; 45: 68-72. e61.
- 28) Uygun AD, Unal M, Falakaloglu S, Guven Y. Comparison of the cyclic fatigue resistance of Hyflex EDM, Vortex Blue, ProTaper Gold, and OneCurve nickel-titanium instruments. *Niger J Clin Pract* 2020; 23: 41-45.
- 29) Dentsply Sirona, Vortex Blue Rotary Files DFU EN. <https://assets.dentsplysirona.com/master/regions-countries/north-america/product-procedure-brand/endodontics/product-categories/files-motors-lubricants/rotary-and-reciprocating-files/vortex-blue/documents/END-DFU-Vortex-Blue-Rotary-Files-EN.pdf> (cited 2020. 9. 3)
- 30) Sabeti M, Kazem M, Dianat O, Bahrololumi N, Beglou A, Rahimipour K, Dehnavi F. Impact of access cavity design and root canal taper on fracture resistance of endodontically treated teeth: An ex vivo investigation. *J Endod* 2018; 44: 1402-1406.
- 31) Pérez-Higueras JJ, Arias A, de la Macorra JC, Peters OA. Differences in cyclic fatigue resistance between ProTaper Next and ProTaper Universal instruments at different levels. *J Endod* 2014; 40: 1477-1481.
- 32) Tsujimoto M, Irifune Y, Tsujimoto Y, Yamada S, Watanabe I, Hayashi Y. Comparison of conventional and new-generation nickel-titanium files in regard to their physical properties. *J Endod* 2014; 40: 1824-1829.
- 33) Capar ID, Ertas H, Arslan H. Comparison of cyclic fatigue resistance of novel nickel-titanium rotary instruments. *Aust Endod J* 2015; 41: 24-28.
- 34) Capar ID, Arslan H. A review of instrumentation kinematics of engine-driven nickel-titanium instruments. *Int Endod J* 2016; 49: 119-135.
- 35) Sattapan B, Nervo GJ, Palamara JE, Messer HH. Defects in rotary nickel-titanium files after clinical use. *J Endod* 2000; 26: 161-165.
- 36) Melo MC, Pereira ES, Viana AC, Fonseca AM, Buono VT, Bahia MG. Dimensional characterization and mechanical behaviour of K3 rotary instruments. *Int Endod J* 2008; 41: 329-338.

## Effect of Taper of Nickel-titanium Rotary Instruments on Cyclic Fatigue Resistance in a Dynamic Model

FUKUMORI Yohei, NAKATSUKASA Taro\*, MAKI Keiichiro\*,  
KIMURA Shunsuke\*, EBIHARA Arata\*, OKIJI Takashi\*  
and SUGIZAKI Jumpei

Department of Dentistry, Toranomon Hospital

\*Department of Pulp Biology and Endodontics, Division of Oral Health Sciences, Medical and Dental Sciences Track,  
Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)

### Abstract

**Purpose:** This study examined the effect of taper on the dynamic cyclic fatigue resistance of nickel-titanium (NiTi) rotary instruments.

**Methods:** This study examined three NiTi instruments with a tip size of 0.25 mm and 25 mm in length; i. e., Vortex Blue (Dentsply Sirona; size #25/0.04 taper and #25/0.06 taper; Group VB 0.04 and Group VB 0.06, respectively), and ProTaper Gold F2 (Dentsply Sirona; size #25/0.08 taper; Group PTG 0.08) (n=10 in each group). An artificial stainless steel canal with a 60° angle and 3 mm radius of curvature was used. The instruments were rotated in the artificial canal using a custom-made dynamic cyclic fatigue test device operated at an up-and-down speed of 50 mm/min and an axial amplitude of 1 mm. Rotational speeds were set according to the manufacturer's recommendation. The canal was filled with a silicone oil to reduce the generation of frictional heat during the rotation of instruments. The time to fracture was measured using a digital stopwatch, and the number of cycles to fracture (NCF) was determined by multiplying the time by the number of rotations per minute. The length of the fractured tip was measured with an electronic digital caliper. NCF and the length of the fractured fragment in the three groups were statistically analyzed using the Kruskal-Wallis test followed by multiple comparisons with the Steel-Dwass test, with 5% set as the level of significance.

**Results:** NCF of Group VB 0.04 showed significantly higher values compared with that of Groups VB 0.06 and PTG 0.08 ( $p < 0.05$ ). There was no statistically significant difference between NCF of Groups VB 0.06 and PTG 0.08 ( $p > 0.05$ ). The length of the fractured fragment of Group VB 0.04 was significantly shorter compared with that of Group VB 0.06 ( $p < 0.05$ ). None of the other intergroup comparisons were statistically significant ( $p > 0.05$ ).

**Conclusion:** Under the present experimental conditions, the 0.04 taper Vortex Blue instrument showed a significantly higher dynamic cyclic fatigue resistance compared with the 0.06 taper Vortex Blue instrument. The dynamic cyclic fatigue resistance of the ProTaper Gold F2 instrument was similar to that of the 0.06 taper Vortex Blue instrument.

**Key words:** dynamic cyclic fatigue resistance, nickel-titanium rotary instrument, taper

## 新規汚染除去材による処理が唾液汚染されたCAD/CAM冠用ハイブリッドレジブロックの象牙質接着強さに及ぼす影響

高橋 圭 吉山 知宏 横山 章人  
島田 康史 吉山 昌宏

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 機能再生・再建科学専攻 生体機能再生・再建学講座 歯科保存修復学分野

### 抄録

目的：臨床現場において，CAD/CAM用ハイブリッドレジブロック（以下，CAD/CAMレジブロック）の脱離にはさまざまな要因が考えられる．本研究では接着阻害因子による脱離に着目し，試適時の唾液汚染に対する新規汚染除去材（DC-200C）の効果について比較検討を行った．

材料と方法：ヒト抜去歯の象牙質面にCAD/CAM用レジ材料カタナアベンシアブロック（クラレノリタケデンタル）をバナビアV5（クラレノリタケデンタル）を用いて接着し，マイクロテンサイル法による引張接着試験を行った．唾液汚染には人工唾液を使用し，除去材にはイボクリン（Ivoclar Vivadent），マルチエッチャント（YAMAKIN），DC-200C（クラレノリタケデンタル）を使用した．試料体1）レジブロックも象牙質も唾液汚染なし（コントロール群），2）レジブロックを唾液汚染，3）レジブロックを唾液汚染後イボクリンで処理，4）レジブロックを唾液汚染後マルチエッチャントで処理，5）レジブロックを唾液汚染後DC-200Cで処理，6）象牙質を唾液汚染，7）象牙質を唾液汚染後マルチエッチャントで処理，8）象牙質を唾液汚染後DC-200Cで処理の計8群とし，24時間37°Cで水中浸漬後切断し，卓上万能試験機を用いてクロスヘッドスピード1.0 mm/minの条件下で引張接着試験を行った．試料数を各8個とし，得られた結果はone-way ANOVAとTukey's testを用いて有意水準5%にて統計処理を行った．また引張試験後の破断面について，デジタルマイクロスコープ（KEYENCE）により形態観察を行った．そして唾液タンパク質の除去効果を調べるために，色素結合法による唾液タンパク質の染色試験も行った．

結果および考察：引張接着試験の結果を以下に示す．1） $35.74 \pm 4.81$  (MPa)，2） $16.75 \pm 4.79$  (MPa)，3） $26.49 \pm 4.21$  (MPa)，4） $23.94 \pm 2.64$  (MPa)，5） $33.50 \pm 6.38$  (MPa)，6） $21.58 \pm 5.73$  (MPa)，7） $30.65 \pm 2.92$  (MPa)，8） $34.43 \pm 5.33$  (MPa)．CAD/CAMレジブロック，象牙質ともに唾液汚染により接着強さは有意に低下した．CAD/CAMレジブロックは唾液汚染後，各唾液除去法で接着強さは回復したが，DC-200Cで処理した群のみがコントロール群と同等の接着強さまで回復した．象牙質は唾液汚染後，各唾液除去法で接着強さは回復したが，DC-200Cで処理した群のみがコントロール群と同等の接着強さまで回復した．また，色素結合法による唾液タンパク質染色試験の結果からも，DC-200CはCAD/CAMレジブロックの被着面の唾液汚染に対して，MDP塩の界面活性効果によりほかの材料よりも高い唾液タンパク除去効果が認められたものと考えられる．

結論：CAD/CAM冠用ハイブリッドレジブロックの唾液汚染に対して新規汚染除去材（DC-200C）を用いることによって，接着強さは汚染前と同等まで回復した．またDC-200Cはほかの汚染除去材よりも高い唾液タンパク質除去効果があることが示唆された．

キーワード：唾液汚染，微小引張接着強さ，CAD/CAMレジブロック

責任著者連絡先：高橋 圭

〒700-8525 岡山市北区鹿田町2-5-1 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科機能再生・再建科学専攻生体機能再生・再建学講座 歯科保存修復学分野

TEL：086-235-6672，FAX：086-235-6674，E-mail：takaha-k@cc.okayama-u.ac.jp

受付：2020年8月24日/受理：2020年11月2日

DOI：10.11471/shikahozon.63.519

## 緒 言

近年、歯科用 CAD/CAM 技術の進歩により、高品質な審美修復冠を短時間かつ低コストで製作することが可能になった。さらに歯科用金属価格の高騰および患者の審美的な要求の高まりを受けて、2014年4月に小白歯部に対して CAD/CAM 用ハイブリッドレジンプロックを用いた歯冠修復（以下、CAD/CAM レジン冠）が保険適応となり、また2017年12月からは第一大臼歯にも適用範囲が拡大されたことにより、CAD/CAM レジン冠による歯冠修復治療が一気に普及するようになった。しかしながら CAD/CAM レジン冠の脱離も臨床現場でみられ、その対策が望まれている。CAD/CAM レジン冠の脱離にはさまざまな要因があり、臨床における接着阻害因子として唾液、血液、滲出液、呼吸、仮着材、仮封材などによる接着面の汚染が考えられ、従来の接着システムでは、唾液や血液汚染によって、エナメル質および象牙質に対する接着強さが著しく低下することが報告されている<sup>1-12)</sup>。また最近の接着システムにおいても、象牙質被着面や修復物、歯冠補綴物内面の唾液や血液汚染によって、接着強さが有意に低下することが報告されている<sup>13-17)</sup>。

CAD/CAM レジン冠の唾液による汚染は支台歯や窩洞への試適時にも生じることから、唾液汚染除去剤が開発され臨床で用いられている。しかしながら口腔内での使用が禁忌の汚染除去剤や、また口腔内にて使用可能でも、唾液の汚染除去効果が低い製品もあり、良好な臨床成績を得るうえで課題が残されている。新規汚染除去材 (DC-200C) は口腔内でも使用可能であり、かつ MDP 塩による汚染除去効果が期待されている。そこで本研究では、CAD/CAM レジン冠内面ならびに被着面である象牙質双方に着目し、唾液汚染後の各種汚染除去材による接着強さの変化を比較し、DC-200C の唾液汚染の除去効果を評価した。

## 材料および方法

「ヘルシンキ宣言(ヒトを対象とする生物学的研究に携わる医師のための勧告)」に基づく倫理的原則を遵守するとともに、岡山大学倫理委員会の許可(承認番号 189号)を得て本実験は実施された。

抜去後に4°C冷蔵保存した健全ヒト大臼歯40本を使用した。

### 1. 実験に使用した材料

Table 1 に、今回実験に使用した各種汚染除去材と接着性レジンセメントであるパナビア V5(クラレノリタケ

デンタル) と汚染物質として使用した人工唾液の組成<sup>18)</sup>を示す。

### 2. 唾液汚染試料の作製

本研究では、形成後の象牙質面に CAD/CAM レジン冠による歯冠修復治療を行うことを想定して実験を行った。そのため、CAD/CAM 冠用ハイブリッドレジンプロックならびに象牙質面それぞれに対して人工唾液を用いて汚染し、微小引張接着強さを測定して比較検討を行った。

歯冠中央部を耐水研磨紙 #600 まで研磨した象牙質面に、CAD/CAM 用レジン材料カタナアベンシアブロックユニバーサル用(クラレノリタケデンタル)をパナビア V5 を用いて接着した。カタナアベンシアブロックを厚さ 6 mm となるように切断し、平面を耐水研磨紙 #400 で研磨し被着面とした。また唾液汚染には人工唾液に1分間浸漬後、30秒間水洗10秒間乾燥後、各汚染除去材をメーカー指示どおりに用いて処理した後、レジンプロックにはクリアフィルセラミックプライマープラス(クラレノリタケデンタル)を用いてシランカップリング処理を行い、象牙質面にはパナビア V5 トゥースプライマー(クラレノリタケデンタル)を用いて、歯面処理を行った。合着用セメントには接着性レジンセメントであるパナビア V5 を用いて、LED 光重合器 (PENCURE, J. Morita, USA) で4方向から各10秒間光照射し接着した。唾液汚染除去剤として、イボクリン、マルチエッチャント、DC-200C を用いた。また実験群は、以下の計8群とし、比較検討を行った。

1. レジンプロック、象牙質ともに唾液汚染なし(コントロール群)。
2. レジンプロックのみを唾液汚染した群
3. レジンプロックのみを唾液汚染後イボクリンで処理した群
4. レジンプロックのみを唾液汚染後マルチエッチャントで処理した群
5. レジンプロックのみを唾液汚染後 DC-200C で処理した群
6. 象牙質のみを唾液汚染した群
7. 象牙質のみを唾液汚染後マルチエッチャントで処理した群
8. 象牙質のみを唾液汚染後 DC-200C で処理した群

### 3. 微小引張接着強さの測定

37°C水中で24時間保管した試料は、硬組織精密低速切断機 (Isomet low speed saw, Buehler, USA) を用いて接着界面に垂直に厚さ約 1.0 mm の連続切片に切り出し、各切片は、接着面積が 1.0 mm<sup>2</sup> になるように微粒子ダイヤモンドポイント (K2ff, ジーシー) を装着したエアタービンを用いて注水下にてダンベル型にトリミン

**Table 1** Materials used in this study with their application procedure

Product	Manufacturer	Composition
DC-200C (Lot : T181116)	Kuraray Noritake Dental	Water, 10-Methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate (MDP), Triethanolamine, Polyethylene glycol, Stabilizer, Dyes
Ivoclean (Lot : X28703)	Ivoclar Vivadent	Zirconium oxide, Water, Polyethylene glycol, Sodium hydroxide, Pigments, Additives
Multi Etchant (Lot : 01091825)	YAMAKIN	Purified water, Phosphoric acid monomer, Thickening agents, Dye
PANAVIA V5 Paste (Lot : AB0089)	Kuraray Noritake Dental	Paste A : Bis-GMA, TEGDMA, Hydrophobic aromatic dimethacrylate, Hydrophilic aliphatic dimethacrylate, Initiators, Accelerators, Silanated barium glass filler, Silanated, Fluoroalminosilicate glass filler, Colloidal silica Paste B : Bis-GMA, Hydrophobic aromatic dimethacrylate, Hydrophilic aliphatic dimethacrylate, Silanated barium glass filler, Silanated aluminum oxide filler, Accelerators, Di-Camphorquinone, Pigments
Tooth Primer (Lot : AG0057) Clearfil Ceramic Primer Plus (Lot : AA0039)		MDP, HEMA, Hydrophilic aliphatic dimethacrylate, Accelerators, Water 3-trimethoxysilypropyl methacrylate, MDP, Ethanol
[Artificial saliva]		CaCl <sub>2</sub> , KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , NaOAc, NaN <sub>3</sub> , Casein, H <sub>2</sub> O
KATANA AVENCIA Block Universal (Lot : 000752)	Kuraray Noritake Dental	Mixed filler with colloidal silica (Ø40 nm) and aluminum (Ø20 nm) oxide, Cured resins consisting of methacrylate monomer (Copolymer of urethane dimethacrylate and other methacrylate monomers), Pigments

グを行った<sup>19,20)</sup>。得られた切片は、Bencor Multi-T testing device (Danville Engineering, USA) にシアノアクリレート接着剤 (Zapit, DVA, USA) を用いて固定し、小型卓上試験機 (EZ Test, Shimadzu) を用いて、クロスヘッドスピード 1 mm/min の条件下で微小引張接着強さを測定した。なお試料数は各 8 個とし、得られた結果は、レジンプロックを対象とした実験群と象牙質を対象とした実験群に分け、各グループにおける実験群間の統計学的有意差を one-way ANOVA と Tukey's test を用いて有意水準 5% にて検定した。

#### 4. 接着破壊様式の分析

デジタルマイクロスコープ (KEYENCE) を用いて、微小引張接着試験後の試料の汚染側破断面を観察し、接着破壊様式を判定した (倍率×200)。なお判定基準は、破断面の接着性レジンセメントの残存割合によって界面破壊、凝集破壊および混合破壊に分類した。

#### 5. 各汚染除去材の唾液タンパク質除去能の評価

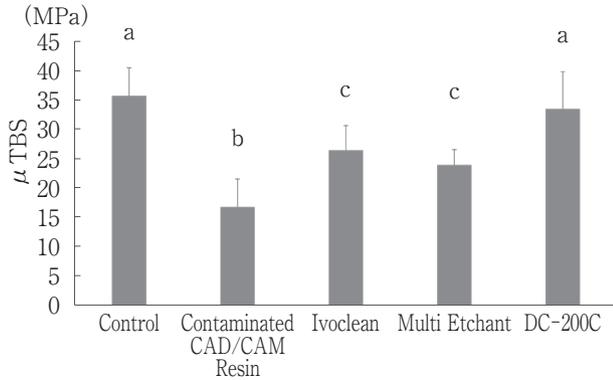
CBB (Coomassie Brilliant Blue) 染色に 45% メタノール/10% 酢酸を加え 0.25% CBB 溶液を準備した。次に #1000 研磨紙によって研磨した CAD/CAM レジンプロックのサンプルを各 3 個準備し、人工唾液に 1 分間の浸漬後、各汚染除去材をメーカー指示どおりに用いて洗浄処理を実施した。0.25% CBB 溶液にサンプルを 12 時間浸漬し、その後水洗・乾燥を行い、分光色差計 (日本電

色, SE6000) を用いて Ø10 mm の範囲で色調測定を行った。そして得られた測色データから算出したコントロールとの色差値で、各汚染除去材の唾液タンパク質除去能を評価した。

## 結 果

CAD/CAM 用ハイブリッドレジンプロックを唾液汚染した実験群における微小引張接着試験における結果を Fig. 1 に、また象牙質を唾液汚染した実験群の微小引張接着強さを Fig. 2 に示す。CAD/CAM レジン冠、象牙質ともに唾液汚染により接着強さは有意に低下した ( $p < 0.05$ )。CAD/CAM レジン冠は唾液汚染後、各唾液除去法 (イボクリーン、マルチエッチャント、DC-200C) で接着強さは回復したが、DC-200C で処理した群のみがコントロール群と同等の接着強さまで回復した ( $p > 0.05$ )。象牙質は唾液汚染後、各唾液除去法 (マルチエッチャント、DC-200C) で接着強さは回復したが、DC-200C で処理した群のみがコントロール群と同等の接着強さまで回復した ( $p > 0.05$ )。

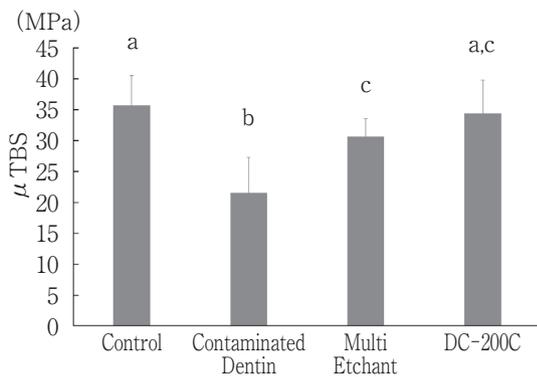
微小引張接着試験後の接着破壊様式を分析した結果について、CAD/CAM 用ハイブリッドレジンプロックを唾液汚染した実験群を Fig. 3 に、また象牙質を唾液汚染した実験群を Fig. 4 に示す。CAD/CAM 用ハイブリッド



Control	Contaminated	Ivoclean	Multi Etchant	DC-200C
35.74±4.81	16.75±4.79	26.49±4.21	23.94±2.64	33.50±6.38

**Fig. 1** μTBS results of contaminated CAD/CAM resin block

Values with the same alphabets indicate no significant difference ( $p>0.05$ )



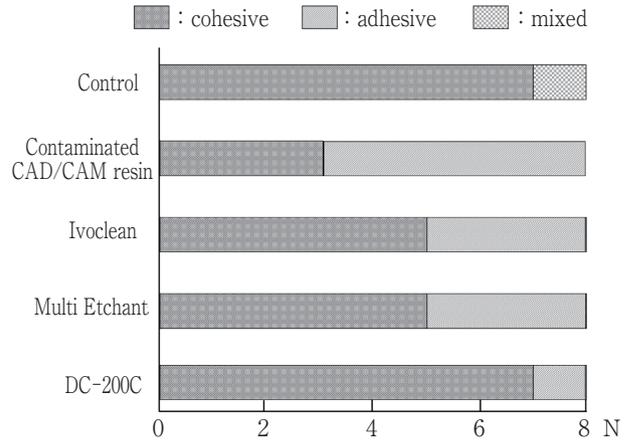
Control	Contaminated	Multi Etchant	DC-200C
35.74±4.81	21.58±5.73	30.65±2.92	34.43±5.33

**Fig. 2** μTBS results of contaminated dentin

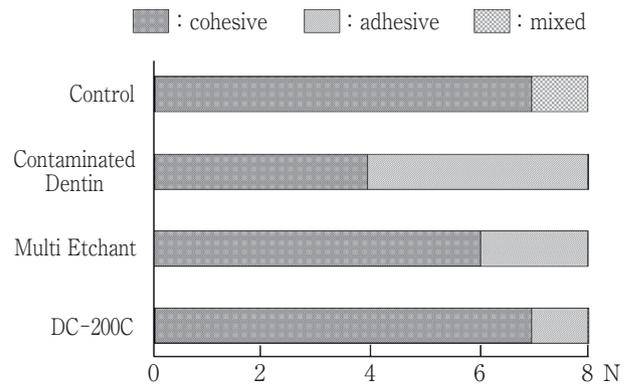
Values with the same alphabets indicate no significant difference ( $p>0.05$ )

レジンプロックならびに象牙質ともに唾液汚染された試料については、コントロールと比較して界面破壊の割合が多く観察された。また、各唾液除去法(イボクリン、マルチエッチャント、DC-200C)で処理することによって界面破壊の割合が減少し、凝集破壊の割合が増加した。また、DC-200Cで処理した群はコントロール群と同様に、ほかの汚染除去法と比較して界面破壊の割合が最も少なかった。

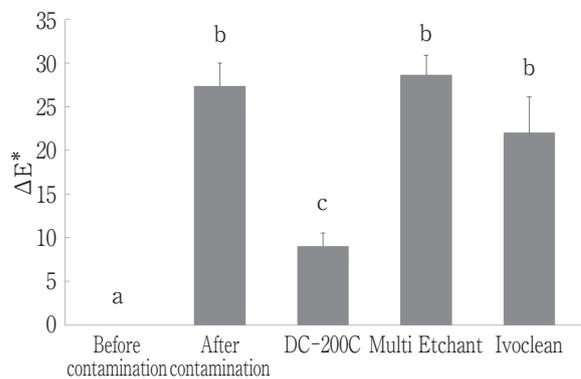
各汚染除去材の唾液タンパク質除去能の評価結果を Fig. 5 に、代表的な染色写真を Fig. 6 に示す。唾液汚染前の状態をコントロールとしてほかの群と比較した結果、イボクリンあるいはマルチエッチャントで処理し



**Fig. 3** Failure mode analysis of the experimental groups for contaminated CAD/CAM resin block



**Fig. 4** Failure mode analysis of the experimental groups for contaminated dentin



Before contamination	After contamination	DC-200C	Multi Etchant	Ivoclean
0	27.39±2.64	9.04±1.50	28.63±2.23	22.03±4.07

**Fig. 5** Evaluation of removal ability of saliva protein on the decontamination materials

Values with the same alphabets indicate no significant difference ( $p>0.05$ )

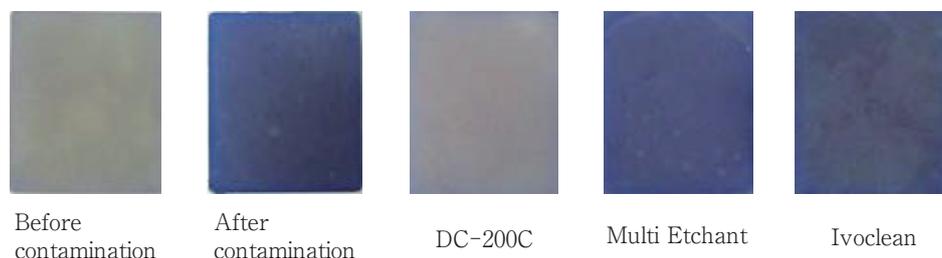


Fig. 6 Photographs of representative specimens after protein staining test

た群はコントロールとの有意差は認めなかった ( $p > 0.05$ ) のに対し、DC-200C を用いて処理した群は有意に低い値を示した ( $p < 0.05$ )。

## 考 察

間接法による接着修復では、完成した修復物を口腔内で試適する際、唾液・歯肉溝滲出液あるいは血液などの接着阻害因子によって汚染が生じ、レジセメントとの接着性が低下することが報告されている<sup>13-17)</sup>。修復物内面が唾液に汚染されると、表面に唾液タンパク質の非共有結合による吸着が起こり、水洗では完全には除去できない有機コーティングが形成される<sup>21)</sup>。また唾液タンパク質による汚染は、35~45%リン酸エッチングによる洗浄でも汚染された唾液成分を完全に除去することはできないことが報告されている<sup>22,23)</sup>。

イボクリンはガラスセラミックス、間接修復用コンポジットレジン、酸化ジルコニウム、酸化アルミニウム、貴金属、卑金属など多くの材料に使用可能であり、特に酸化ジルコニウムや卑金属で高い効果を発揮することが報告されている<sup>24-26)</sup>。しかし強アルカリ性 (pH13.5) のため口腔内での使用は禁忌であり、窩洞形成後の象牙質面や直接法コンポジットレジン修復には適用できない。

マルチエッチャントは pH1.6 でエッチング材として通常使用する 35~45%リン酸水溶液よりマイルドな酸性のため、口腔内での使用はもちろん象牙質に対しても過脱灰が抑制されるため使用可能である。また、リン酸ではなく接着性リン酸モノマー (11-メタクリロイルオキシテトラエチレングリコールジハイドロゲンホスフェート) を含有しているためジルコニア、チタン、銀合金、レジンプロックなど多くの材料に使用可能であり、特にジルコニアに対してはプライミング効果も有する。

新規汚染除去材 DC-200C は pH4.5 で弱酸性であり、口腔内での使用が可能である。また、使用用途は多岐にわたり、天然歯 (エナメル質・象牙質)、歯科用セラミックス (ジルコニア・歯科用陶材・ニケイ酸リチウム)、レジン系材料 (CAD/CAM 冠・コンポジットレジン)、歯科用ポスト (グラスファイバーポスト・金属ポスト)、歯

科用金属 (貴金属合金・非貴金属合金) などに使用可能である。

微小引張接着試験ならびに色素結合法によるタンパク質染色試験の結果から、CAD/CAM 用ハイブリッドレジンプロックに対しては、新規汚染除去材 DC-200C はイボクリン、マルチエッチャントで処理した群と比較して有意にタンパク質除去効果が認められたことから、唾液汚染された被着面の唾液タンパク成分の大部分が除去されたことにより、コントロールと有意差ない接着強さまで回復したものと考えられる。

一般的に洗浄剤の主成分である界面活性剤は、一つの分子の中に水になじみやすい部分 (親水基) と油になじみやすい部分 (疎水基) の両方を併せもつ化学構造上の特徴を有している。水中では分子の疎水基同士が凝集し、親水基が外側に向いた集合体 (ミセル) を形成する。このミセルは、内側の疎水基に汚れ成分を取り込む性質を有することが知られ、DC-200C においても、配合されている MDP 塩が同様に水中でミセルを形成することにより洗浄作用を発現していると推測される。そのため DC-200C では、MDP に対して塩基性成分を添加し MDP 塩とすることにより、本来は水に難溶の MDP を水に溶解させ、水を溶媒として高い界面活性効果を発揮することにより、ほかの材料よりも高い唾液タンパク除去効果が認められたものと考えられる。したがって、CAD/CAM 冠用レジンプロックの唾液汚染に対して DC-200C に配合されている MDP 塩による界面活性効果は、イボクリンに含まれる水酸化ナトリウムによる清掃効果やマルチエッチャントに配合されている接着性リン酸モノマーによる清掃効果に比べて唾液汚染除去効果が高いことが示唆された。

しかしながら、現在多くの CAD/CAM 冠用レジンプロックがこれまでに開発されており、各ブロックの性質はさまざまである。亀山らは現在市販されている 8 種類の CAD/CAM 冠用レジンプロックの物性について比較・検討した結果、すべてのレジンプロック間で無機フィラー含有量に有意差が認められたと報告している<sup>27)</sup>。したがって、ほかの CAD/CAM 冠用レジンプロックについても今回と同様な結果が得られるか検討する必

要があると思われる。また本研究では24時間後の接着強さを測定しており、長期的予後を評価するためにはさらなる研究が必要と思われる。

## 結 論

CAD/CAM 冠用ハイブリッドレジンブロックの唾液汚染に対して、新規汚染除去材 (DC-200C) を用いることによって接着強さは汚染前と同等まで回復した。また DC-200C は、ほかの汚染除去材よりも高い唾液タンパク質除去効果があることが示唆された。

本研究の遂行および本論文の作成にあたり、開示すべき一切の利益相反はない。

## 文 献

- 1) Hansen EK, Munksgaard EC. Saliva contamination vs. efficacy of dentin-bonding agents. *Dent Mater* 1989; 5: 329-333.
- 2) Xie J, Powers JM, McGuckin RS. In vitro bond strength of two adhesives to enamel and dentin under normal and contaminated conditions. *Dent Mater* 1993; 9: 295-299.
- 3) Johnson ME, Burgess JO, Hermes CB, Buikema DJ. Saliva contamination of dentin bonding agents. *Oper Dent* 1994; 19: 205-210.
- 4) Powers JM, Finger WJ, Xie J. Bonding of composite resin to contaminated human enamel and dentin. *J Prosthodont* 1995; 4: 28-32.
- 5) Abdalla AI, Davidson CL. Bonding efficiency and interfacial morphology of one-bottle adhesives to contaminated dentin surfaces. *Am J Dent* 1998; 11: 281-285.
- 6) El-Kalla IH, Garcia-Godoy F. Saliva contamination and bond strength of single-bottle adhesives to enamel and dentin. *Am J Dent* 1997; 10: 83-87.
- 7) Aboush YE. Removing saliva contamination from porcelain veneers before bonding. *J Prosthet Dent* 1998; 80: 649-653.
- 8) Bishara SE, Oonsombat C, Ajlouni R, Denehy G. The effect of saliva contamination on shear bond strength of orthodontic brackets when using a self-etch primer. *Angle Orthod* 2002; 72: 554-557.
- 9) 横田春日, 川口政廣, 横田広彰, 久保至誠, 林 善彦. セルフエッチングプライマーシステムの象牙質接着に及ぼす唾液汚染の影響. *日歯保存誌* 2003; 46: 916-924.
- 10) Van Schalkwyk JH, Botha FS, van der Vyver PJ, de Wet FA, Botha SJ. Effect of biological contamination on dentine bond strength of adhesive resin. *S Afr Dent J* 2003; 58: 143-147.
- 11) Eiriksson SO, Pereira PN, Swift Jr EJ, Heymann HO, Sigurdsson A. Effect of saliva contamination on resin-resin bond strength. *Dent Mater* 2004; 20: 37-44.
- 12) Chung CW, Yiu CK, King NM, Hiraishi N, Tay FR. Effect of saliva contamination on bond strength of resin luting cements to dentin. *J Dent* 2009; 37: 923-931.
- 13) Stawarczyk B, Basler T, Ender A, Roos M, Ozcan M, Hammerle C. Effect of surface conditioning with airborne-particle abrasion on the tensile strength of polymeric CAD/CAM crowns luted with self-adhesive and conventional-type adhesive resin cements. *J Prosthet Dent* 2012; 107: 94-101.
- 14) Kim YK, Min BK, Son JS, Jeong SH, Kim YK, Kim KH, Kwon TY. Influence of different drying methods on microtensile bond strength of self-adhesive resin cements to dentin. *Acta Odontol Scand* 2014; 72: 954-962.
- 15) Kim DH, Son JS, Jeong SH, Kim YK, Kim KH, Kwon TY. Efficacy of various cleaning solutions on saliva-contaminated zirconia for improved resin bonding. *J Adv Prosthodont* 2015; 7: 85-92.
- 16) Ishii R, Tsujimoto A, Takamizawa T, Tsubota K, Suzuki T, Shimamura Y, Miyazaki M. Influence of surface treatment of contaminated zirconia on surface free energy and resin cement bonding. *Dent Mater J* 2015; 34: 91-97.
- 17) Higashi M, Matsumoto M, Kawaguchi A, Miura J, Minamino T, Kabetani T, Takeshige F, Mine A, Yatani H. Bonding effectiveness of self-adhesive and conventional-type adhesive resin cements to CAD/CAM resin blocks. Part 1: Effects of sandblasting and silanization. *Dent Mater J* 2016; 35: 21-28.
- 18) 高橋彬文, 高垣智博, 佐藤隆明, 池田正臣, 二階堂 徹, 田上順次. 唾液汚染後のリン酸処理がジルコニアセラミックスの接着に及ぼす影響. 日本歯科保存学会2015年度春季学術大会(第142回)プログラムおよび講演抄録集; 142: 41, B15.
- 19) Pahsley DH, Sano H, Ciucchi B, Yoshiyama M, Carvalho RM. Adhesion testing of dentin bonding agents: a review. *Dent Mater* 1995; 11: 117-125.
- 20) Pahsley DH, Carvalho RM, Sano H, Nakajima M, Yoshiyama M, Shono Y, Fernandes CA, Tay F. The microtensile bond test: a review. *J Adhes Dent* 1999; 1: 299-309.
- 21) Takahashi A, Takagaki T, Wada T, Uo M, Nikaido T, Tagami J. The effect of different cleaning agents on saliva contamination for bonding performance of zirconia ceramics. *Dent Mater J* 2018; 37: 734-739.
- 22) Kawaguchi A, Matsumoto M, Higashi M, Miura J, Minamino T, Kabetani T, Takeshige F, Mine A, Yatani H. Bonding effectiveness of self-adhesive and conventional-type adhesive resin cements to CAD/CAM resin blocks. Part 2: Effects of ultrasonic and acid cleaning.

- Dent Mater J 2016; 35: 29-36.
- 23) Kawaguchi-Uemura A, Mine A, Matsumoto M, Tajiri Y, Higashi M, Kabetani T, Hagino R, Imai D, Minamino T, Miura J, Yatani H. Adhesion procedure for CAD/CAM resin crown bonding. Reduction of bond strengths due to artificial saliva contamination; J Prosthodont Res 2018; 62: 177-183.
- 24) Wolfart M, Lehmann F, Wolfart S, Kern M. Durability of the resin bond strength to zirconia ceramic after using different surface conditioning methods. Dent Mater 2007; 23: 45-50.
- 25) Yang B, Lange-Jansen HC, Scharnberg M, Wolfart S, Ludwig K, Adelung R, Kern M. Influence of saliva contamination on zirconia ceramic bonding. Dent Mater 2008; 24: 508-513.
- 26) Klosa K, Wolfart S, Lehmann F, Wenz HJ, Kern M. The effect of storage conditions, contamination modes and cleaning procedures on the resin bond strength to lithium disilicate ceramic. J Adhes Dent 2009; 11: 127-135.
- 27) 亀山祐佳, 大橋 桂, 山口紘章, 三宅 香, 和田悠希, 緑野智康, 谷本安浩, 寺中文字, 岩井啓寿, 平山聡司, 二瓶智太郎. CAD/CAM冠用ハイブリッドレジンプロックの物性に関する研究. 日歯理工誌 2017; 36: 453-459.

## Effect of New Decontamination Material on the Dentin Bond Strength of Saliva-contaminated Hybrid Resin Block for CAD/CAM Crowns

TAKAHASHI Kei, YOSHIYAMA Tomohiro, YOKOYAMA Akihito,  
SHIMADA Yasushi and YOSHIYAMA Masahiro

Department of Operative Dentistry, Field of Study of Biofunctional Recovery and Reconstruction,  
Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

### Abstract

**Objectives:** The clinical failure of hybrid resin crowns fabricated using computer-aided design and computer-aided manufacturing (CAD/CAM) involves various factors. The aim of this study was to evaluate the effect of decontamination agents for saliva contamination on the bonding of CAD/CAM crowns.

**Methods:** CAD/CAM resin blocks (KATANA AVENCIA Block Universal, Kuraray Noritake Dental) were bonded to the dentin surface with and without artificial saliva contamination. A newly developed decontamination agent containing MDP (DC-200C, Kuraray Noritake Dental) and two commercially available decontamination agents (Ivoclean, Ivoclar Vivadent; Multi Etchant, YAMAKIN) were used in this study. Flat dentin surfaces were prepared and divided into eight groups. CAD/CAM resin blocks were bonded to the dentin surface using PANAVIA V5 (Kuraray Noritake Dental) as follows: 1) control group without saliva contamination on either resin block or dentin, 2) resin block with saliva contamination, 3) resin block with saliva contamination and Ivoclean decontamination, 4) resin block with saliva contamination and Multi Etchant decontamination, 5) resin block with saliva contamination and DC-200C decontamination, 6) dentin with saliva contamination, 7) dentin with saliva contamination and Multi Etchant decontamination, and 8) dentin with saliva contamination and DC-200C decontamination. After 24 hours, the samples were subjected to microtensile bond strength testing at the crosshead speed of 1.0 mm/min. A saliva protein staining test was performed by the pigment binding method to investigate the effect of removing saliva protein. The results were statistically analyzed at the significance level of  $p=0.05$ .

**Results:** The obtained bond strength values in MPa were as follows: 1)  $35.74 \pm 4.81$ , 2)  $16.75 \pm 4.79$ , 3)  $26.49 \pm 4.21$ , 4)  $23.94 \pm 2.64$ , 5)  $33.50 \pm 6.38$ , 6)  $21.58 \pm 5.73$ , 7)  $30.65 \pm 2.92$ , and 8)  $34.43 \pm 5.33$ . The saliva contamination on both the CAD/CAM resin block and dentin surface showed significantly lower values than the control group ( $p < 0.05$ ). All the decontamination agents could significantly restore the bond strength from the saliva contamination ( $p < 0.05$ ), and DC-200C showed no significant difference from the control ( $p > 0.05$ ). From the results of the saliva protein staining test, DC-200C showed higher removal effect of saliva protein for the CAD/CAM resin surface than the other materials due to the surface active effect of MDP salt.

**Conclusion:** The bond strength of the saliva-contaminated CAD/CAM hybrid resin block was restored to the same level as before the contamination by using a new decontamination material (DC-200C). It is suggested that DC-200C has a higher salivary protein removal effect than the other decontamination materials.

**Key words:** saliva contamination, microtensile bond strength, CAD/CAM resin crown

---

Corresponding author: Dr. TAKAHASHI, Department of Operative Dentistry, Field of Study of Biofunctional Recovery and Reconstruction, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, 2-5-1, Shikata-cho, Kita-ku, Okayama 700-8525, Japan

TEL: +81-86-235-6672, FAX: +81-86-235-6674, E-mail: takaha-k@cc.okayama-u.ac.jp

Received for Publication: August 24, 2020/Accepted for Publication: November 2, 2020

## 生物学的直接覆髄剤開発に向けた生理活性物質 RVX-208 の 歯髄細胞における機能解析

松本昌大 藤原千春 島袋善夫  
山本 優 NANTAKEERATIPAT Teerachate 北垣次郎太  
八木寛子 林 聡子 岩山智明  
柏木陽一郎 三木康史 北村正博  
沢田啓吾 木下茉優 村上伸也

大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座 (口腔治療学教室)

### 抄録

目的: 水酸化カルシウム製剤や Mineral Trioxide Aggregate (MTA) を用いた直接覆髄法が一般的に用いられているが、これらは、歯髄組織に広範な壊死を引き起こすという欠点を有する。このため、歯髄細胞への傷害性の少ない新たな直接覆髄材 (剤) の開発が期待されている。生理活性物質の一つである RVX-208 は、エピジェネティクスに遺伝子発現を変化させることで、炎症や骨代謝の制御に重要な役割を担うことが報告されているが、歯髄細胞における機能は不明である。そこで本研究は、RVX-208 の歯髄細胞に対する毒性評価および同細胞における RVX-208 の機能を検討することで、生物学的直接覆髄剤として必要な機能の一端を RVX-208 が有するの可否かを検討することを目的とした。

材料と方法: 大阪大学歯学部附属病院にて矯正治療のために便宜抜歯された第一小白歯を抜髄し、out-growth法を用いて単離したヒト歯髄細胞 (hDPC) を実験に供した。RVX-208 が hDPC に及ぼす細胞毒性については、ヨウ化プロビジウム (PI) 染色にて検討した。そして、RVX-208 が hDPC の増殖に及ぼす影響については、ブロモデオキシウリジン (BrdU) アッセイを用いて検討した。さらに、hDPC を RVX-208 存在下で石灰化誘導し、培養 18 日目における石灰化物の形成を、アリザリンレッド染色法を用いて検討した。加えて、石灰化誘導過程における hDPC の象牙芽細胞分化関連遺伝子の発現をリアルタイム PCR 法を用いて検討した。

結果: RVX-208 (0~100 nmol/l) は、hDPC の死細胞率を増加させることはなかった。BrdU アッセイの結果、RVX-208 (0~100 nmol/l) は hDPC の増殖を損なうことはなかった。一方、アリザリン染色の結果より、hDPC の硬組織形成細胞への分化誘導 18 日目において、RVX-208 (0~100 nmol/l) は濃度依存的に hDPC の石灰化物形成を促進することが明らかとなった。さらに、リアルタイム PCR 解析の結果より、hDPC の硬組織形成細胞への分化過程において、RVX-208 (0~100 nmol/l) は、hDPC におけるアルカリホスファターゼ (ALPL) および I 型コラーゲン (COL1A1) 遺伝子の発現を低下させた。一方、RVX-208 (0~100 nmol/l) は、hDPC における象牙質シアロタンパク (DSPP) およびデンチンマトリックスプロテイン 1 (DMP1) の遺伝子発現を上昇させた。加えて、石灰化誘導 6 日目において、RVX-208 (0~100 nmol/l) は hDPC の *Runt-Related Transcription Factor-2* (RUNX2) の遺伝子発現に影響を及ぼさなかったが、石灰化誘導 18 日目において、100 nmol/l RVX-208 は hDPC の RUNX2 遺伝子発現を有意に抑制した。

結論: 生理活性物質 RVX-208 は、歯髄細胞に対して毒性を示さず、その増殖を損なうことなしに、歯髄細胞の硬組織形成細胞への分化および石灰化を促進することが明らかとなった。すなわち、RVX-208 は安全で有効な直接覆髄剤の一候補となる可能性が示唆された。

キーワード: RVX-208, ヒト歯髄細胞, 直接覆髄剤

責任著者連絡先: 藤原千春

〒565-0871 大阪府吹田市山田丘1-8 大阪大学大学院歯学研究科口腔分子免疫制御学講座 (口腔治療学教室)

TEL: 06-6879-2932, FAX: 06-6879-2934, E-mail: fchiharu@dent.osaka-u.ac.jp

受付: 2020年8月20日/受理: 2020年11月5日

DOI: 10.11471/shikahozon.63.527

## 緒言

深在性のう蝕治療に際し、偶発的に露髄を認めた場合、外部からの物理的・化学的的刺激から歯髄を保護するために、露髄面を覆髄材で覆う直接覆髄法が用いられる。現在、直接覆髄材として水酸化カルシウム製剤、Mineral Trioxide Aggregate (MTA) セメントやタンニン・フッ化物配合カルボキシレートセメントなどが一般的に使用されている。これらの直接覆髄材は、歯髄細胞に作用することで、歯髄の硬組織添加を促進することが報告されている<sup>1)</sup>。その一方で、露髄面を pH 12 前後という強アルカリ環境下に曝すため、歯髄に為害的に作用するという欠点をもつ。このため、新たな直接覆髄材(剤)の開発が期待されている。

歯髄は、象牙芽細胞・線維芽細胞・免疫担当細胞などの細胞成分を有し、血管や神経の豊富な結合組織で、歯の形成に関与し、外部刺激や細菌に対する防御機能をもつ。歯髄には、これらの細胞以外に歯髄幹細胞と呼ばれる未分化間葉系細胞が存在しており、歯の損傷時には歯髄幹細胞が増殖し、象牙芽細胞様細胞に分化して修復象牙質を形成することで、機械的・温熱的・化学的・細菌などの刺激を遮断して歯髄を保護することが明らかとなっている<sup>2)</sup>。

従来、植物に含まれるさまざまな生理活性物質の薬理効果に着目し、これらの植物由来成分を医療応用する試みがなされている<sup>3)</sup>。一例として、茶の成分の一つであるカテキンは、抗炎症作用・抗菌作用・抗酸化作用を有しており、これらの作用が歯周病をはじめ心血管疾患やメタボリックシンドロームなどさまざまな疾患に対して有効であることが示されている<sup>4)</sup>。また、ニチニチソウより抽出されるピンカアルカロイドは微小管の安定化を阻害し、細胞分裂を停止させることで細胞のアポトーシスを誘導し抗腫瘍効果を示す<sup>5)</sup>。生理活性物質の一つである RVX-208 は、植物性ポリフェノールレスベラトロールの誘導体を組成とし、近年、心血管疾患の医薬品候補として同定された低分子化合物である<sup>6)</sup>。Jahagirdar ら<sup>7)</sup>は、RVX-208 が、肝細胞においてアポリポタンパク A-1 遺伝子の発現を上昇させることにより、肝細胞からの High Density Lipoprotein の産生増加を誘導して、肝臓において炎症抑制に作用することを示している。歯科の分野においても RVX-208 の薬理作用に関する報告があり、その一例として、RVX-208 を歯周病誘導マウスに投与すると、破骨細胞の分化や成熟に関連する遺伝子の発現が低下し、破骨細胞前駆細胞の分化を抑制することで、歯槽骨の吸収量が減少することが報告されている<sup>8)</sup>。RVX-208 と同じ Bromodomain and extra-

terminal (BET) のアンタゴニストである JQ1 は、BET タンパクの一つ Bromodomain-containing protein 4 (BRD4) を阻害することで *RUNX2* の遺伝子発現を抑制し、骨肉腫細胞の骨芽細胞様細胞への分化を負に制御することが明らかとなっている<sup>9)</sup>。これらの研究から、RVX-208 は、さまざまな細胞の遺伝子の発現を変化させることで、炎症や骨代謝の制御に重要な役割を担う可能性が考えられる。しかしながら、間葉系細胞の一つである歯髄細胞の表現系にどのような影響を及ぼすのかに関してはいまだ明らかではない。

そこで本研究は、RVX-208 がヒト歯髄細胞の増殖および同細胞の硬組織形成細胞への分化・石灰化能にどのような影響を及ぼすのかを検討し、RVX-208 が直接覆髄剤として必要なこれらの機能を有するの可否について検討を行った。

## 材料および方法

### 1. 細胞培養

本研究は、大阪大学大学院歯学研究科研究倫理委員会の承認を得て行われた。本実験の内容を理解したうえで、インフォームドコンセントが得られた矯正治療中の患者から第一小臼歯の便宜抜歯を行い、髄腔を開拓した後、歯髄組織を摘出し、35 mm Culture Dish (Corning, USA) 内に入れて得られた細胞を培養した。同組織片より遊走、増殖してきた細胞を 5~12 代継代し、ヒト歯髄細胞 (hDPC) として本実験に供した。継代の際には、0.2% トリプシン-0.02% エチレンジアミン四酢酸四ナトリウム (Gibco Laboratories, USA) を用いた。hDPC の継代培養には、10% Fetal Bovine Serum (FBS, Thermo Fisher Scientific, USA) と 60  $\mu\text{g}/\text{ml}$  カナマイシン (和光純薬工業) を加えた  $\alpha$  変法イーグル最小必須培地 (MEM $\alpha$ , 和光純薬工業) を用いて、37°C, 5% CO<sub>2</sub> 気相下で行った。hDPC の石灰化能をもつ細胞への分化誘導には、RVX-208 (Cayman Chemical, USA) 添加またはジメチルスルホキシド (DMSO, 和光純薬工業) を添加した石灰化誘導培地 [10% FBS, 5 mmol/l  $\beta$  グリセリン酸 (和光純薬工業), 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$  アスコルビン酸 (和光純薬工業) 含有] を用いて、2, 3 日ごとに培地を交換した。

### 2. 細胞毒性の検討

12-well Clear TC-treated Multiple Well Plates (Corning) に hDPC (1.0 $\times$ 10<sup>5</sup> cells/well) を播種し、無血清培地で starvation を行った。24 時間後、濃度の異なる RVX-208 (0~100 nmol/l) 存在下で hDPC を培養し、24 時間後の死細胞数の割合をヨウ化プロビジウム (PI, 和光純薬工業) で染色して測定した。すなわち、細胞を

Hank's バッファー [1%ウシ血清アルブミン (BSA, Sigma Aldrich, USA) 含有 Hank's 平衡塩溶液 (HBSS, Thermo Fisher Scientific)] で洗浄し, PI (1 µg/tube) を添加後, フローサイトメーター (BD FACS Calibur, BD Bioscience, USA) を用いて解析した. 解析は, FlowJo (BD Bioscience) を用いて, PI 陽性細胞の割合を測定した.

### 3. 細胞増殖能の検討

96-well Multiple Well Cell Culture Plates (Corning) に hDPC ( $1.0 \times 10^4$  cells/well) を播種し, 無血清培地で 24 時間 starvation を行った. その後, 濃度の異なる RVX-208 (0~100 nmol/l) 存在下で hDPC を培養した際の細胞増殖能を, Cell Proliferation ELISA BrdU assay kit (Roche, Switzerland) を用いて測定した. すなわち,  $1.0 \times 10^4$  cells/well の hDPC を 10 µmol/l ブロモデオキシウリジン (BrdU) でラベルし, 10% FBS 含有 MEM $\alpha$  培地で 24 時間培養した. その後, 細胞を洗浄・固定し, 抗 BrdU 抗体で標識し, BrdU 取り込み細胞をルミノメーター (GLOMAX: 96 MICROPLATE LUMINOMETER, Promega, USA) を用いて測定した.

### 4. 石灰化物形成能の検討

hDPC を硬組織形成細胞へと分化誘導した. すなわち, 12-well Multiple Well Cell Culture Plates (Corning) に hDPC ( $1.0 \times 10^5$  cells/well) を播種し, 石灰化誘導培地を用いて 18 日間培養した. 歯髄細胞の石灰化物形成能についての検討は, アリザリン染色を用いて行った<sup>10)</sup>. すなわち, 細胞をダルベッコリン酸緩衝生理食塩水 (PBS, 和光純薬工業) にて洗浄した後, エタノール (和光純薬工業) にて固定した. 洗浄後, 1%アリザリンレッド染色液 (pH 6.4, 和光純薬工業) にて石灰化物を染色した. 画像解析ソフトウェア (WinRoof, 三谷商事) を用いてアリザリンレッド陽性の密度をデンスメトリック解析した.

### 5. 象牙芽細胞分化関連遺伝子の発現検討

hDPC の石灰化誘導過程における象牙芽細胞分化関連遺伝子の発現を検討した. すなわち, 12-well Multiple Well Cell Culture Plates (Corning) に hDPC ( $1.0 \times 10^5$  cells/well) を播種し, 石灰化誘導培地を用いて培養した. 培養 6 日と 18 日目に, RNA-Bee (TEK-TEST, USA) を用いて細胞から全 RNA を抽出・精製した. 得られた全 RNA を鋳型として, High Capacity RNA-to-cDNA kit (Applied Biosystems, USA) を用いて逆転写反応を行い, cDNA を作製した. 得られた cDNA を鋳型として, リアルタイム PCR 法により象牙芽細胞分化関連遺伝子の発現を検討した. PCR 反応は, Fast SYBR Green PCR Master Mix (Applied Biosystems) を用いて, StepOnePlus Real-time PCR System (Applied Bio-

systems) にて行った. また, 各遺伝子の発現量は, ハウスキーピング遺伝子 *Hypoxanthine Phosphoribosyltransferase* (*HPRT*) を内在性コントロール遺伝子として, 同遺伝子の発現量に対する相対量として算出した. 象牙芽細胞分化関連遺伝子に特異的なプライマー (タカラバイオまたは Thermo Fisher Scientific) の配列は次のとおりである.

*HPRT*: F: 5'-GGCAGTATAATCCAAAGATGGTCAA-3', R: 5'-GTCAAGGGCATATCCTACAA-CAAAC-3', *ALPL*: F: 5'-GGACCATTCCCACGTCTTAC-3', R: 5'-CCTTGTAGCCAGGCCATTG-3', *COL1A1*: F: 5'-CCCGGGTTTCAGAGACAACCTTC-3', R: 5'-TCCACATGCTTTTATTCCAGCAATC-3', *DSPP*: F: 5'-GGCAGTGCATCAAAGGAGC-3', R: 5'-TGCTGTCACACTGTCACACTGCTG-3', *DMP1*: F: 5-TGGAGTTGCTGTTTCTGTAGAG-3, R: 5'-ATTGC-CGACAGGATGCAGA-3', *RUNX2*: F: 5'-CACTGGC-GCTGCAACAAGA-3', R: 5'-CATTCGGAGCTCAG-CAGAATAA-3'

### 6. 統計学的解析

データは, それぞれの平均値±標準偏差で示し, 3 群以上の比較では One-way ANOVA と Dunnett 法を用いて有意水準 5% にて統計処理を行った.

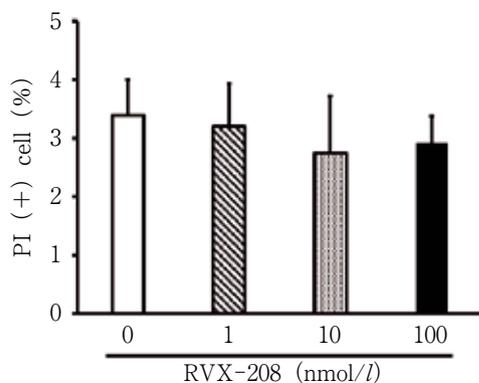
## 結 果

### 1. hDPC に対する RVX-208 の細胞毒性評価

hDPC に対する RVX-208 の細胞毒性を評価するために, hDPC に RVX-208 を添加した際の死細胞の割合を検討した. すなわち, hDPC に RVX-208 (0~100 nmol/l) を添加し, 24 時間培養後, PI 陽性死細胞の割合をフローサイトメーターで測定した. その結果, 1~100 nmol/l の RVX-208 を添加した群と 0 nmol/l RVX-208 (DMSO 単独添加) 群との間で, PI 陽性 hDPC の割合に有意差を認めなかった (Fig. 1).

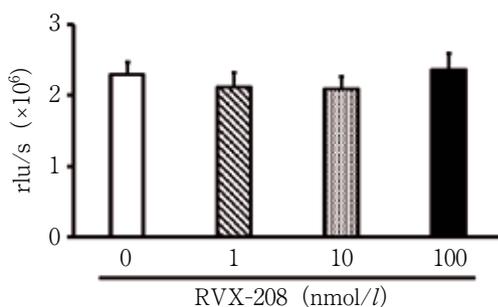
### 2. RVX-208 が hDPC の細胞増殖能に及ぼす影響

次に, RVX-208 が hDPC の細胞増殖能にどのような影響を及ぼすのかを検討するために, BrdU アッセイを用いて RVX-208 の刺激による hDPC の細胞増殖能を検討した. すなわち, hDPC に RVX-208 (0~100 nmol/l) を添加し 24 時間培養後, hDPC に取り込まれた BrdU を, ルミノメーターを用いて測定した. BrdU アッセイの結果, 1~100 nmol/l の RVX-208 を添加した群と 0 nmol/l RVX-208 (DMSO 単独添加) 群との間で, BrdU の取り込み量に有意差を認めなかった (Fig. 2).



**Fig. 1** Effect of RVX-208 on cytotoxicity of hDPC

hDPC was treated with RVX-208 (0-100 nmol/l) and the frequency of PI<sup>+</sup> dead hDPC was analyzed by flow cytometry. Values represent the mean ± standard deviation (SD) of triplicate assays.

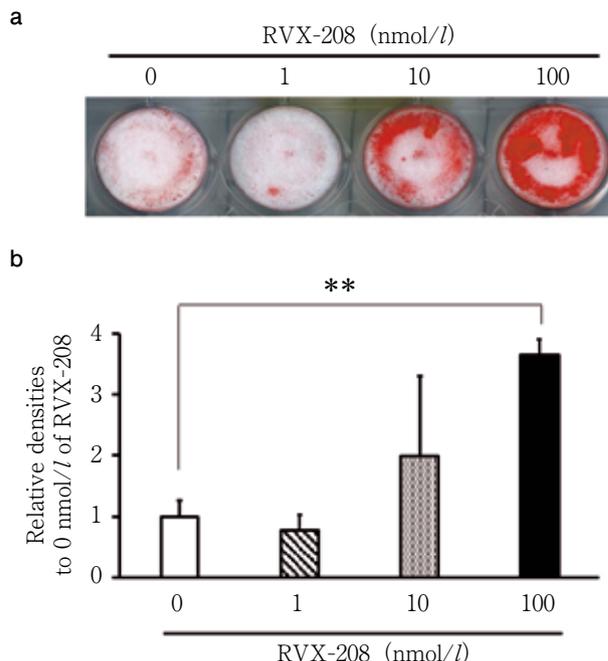


**Fig. 2** Effect of RVX-208 on proliferation of hDPC

hDPC was treated with RVX-208 (0-100 nmol/l) and the incorporation of BrdU in hDPC was analyzed. Values represent the mean ± SD of triplicate assays.

### 3. RVX-208 が hDPC の石灰化物形成能に及ぼす影響

加えて、RVX-208 が hDPC の石灰化物形成能に及ぼす影響を検討するために、hDPC を硬組織形成細胞へと分化誘導した際の石灰化物の形成能をアリザリン染色法にて検討した。すなわち、hDPC を RVX-208 (0~100 nmol/l) 存在下で石灰化誘導培地にて培養し、18 日後の石灰化物をアリザリンレッドで染色した。アリザリン染色陽性の石灰化物をデンシメトリック解析にて計測した結果、RVX-208 は濃度依存的に hDPC の石灰化物形成を促進させることが明らかとなった。さらに、100 nmol/l RVX-208 は 0 nmol/l RVX-208 (DMSO 単独添加) 群と比較して、有意に石灰化物の形成を促進させることが明らかとなった (Fig. 3)。



**Fig. 3** Effect of RVX-208 on calcified nodule formation of hDPC

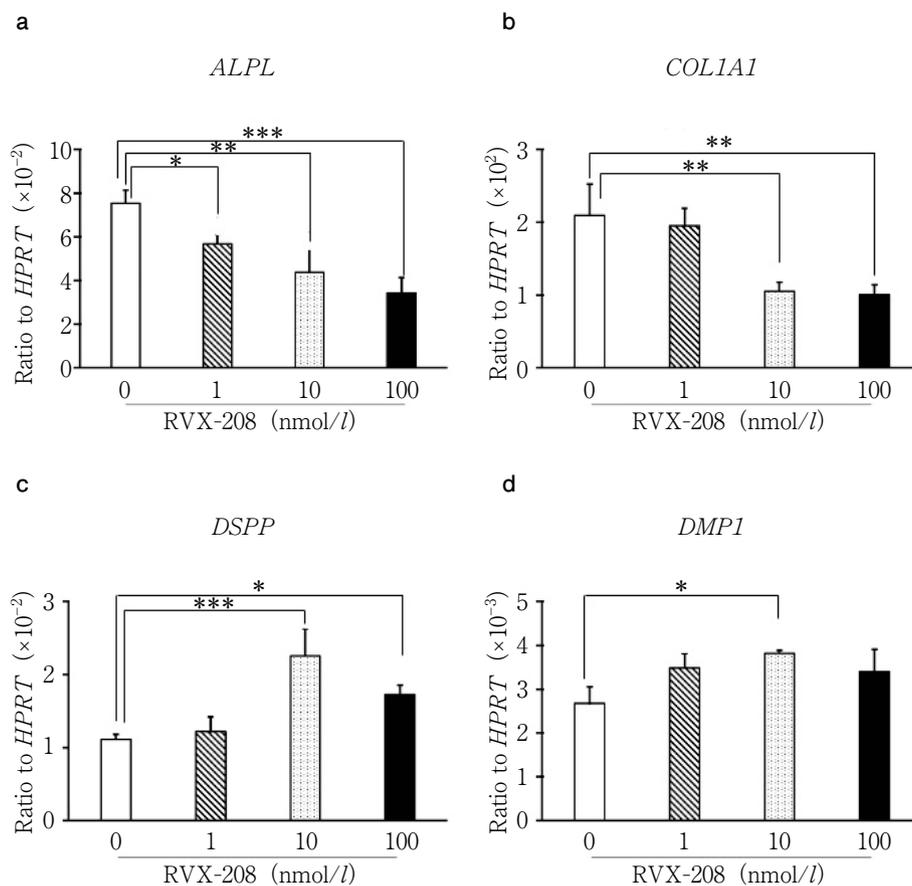
hDPC was cultured in calcification medium in the presence of RVX-208 (0-100 nmol/l) and the alizarin staining was performed on day 18.

a) Images of the alizarin stained hDPC. Data are representative of three independent experiments.

b) The densities of the alizarin staining. Values represent the mean ± SD of triplicate assays. \*\*:  $p < 0.01$ , compared with 0 nmol/l RVX-208.

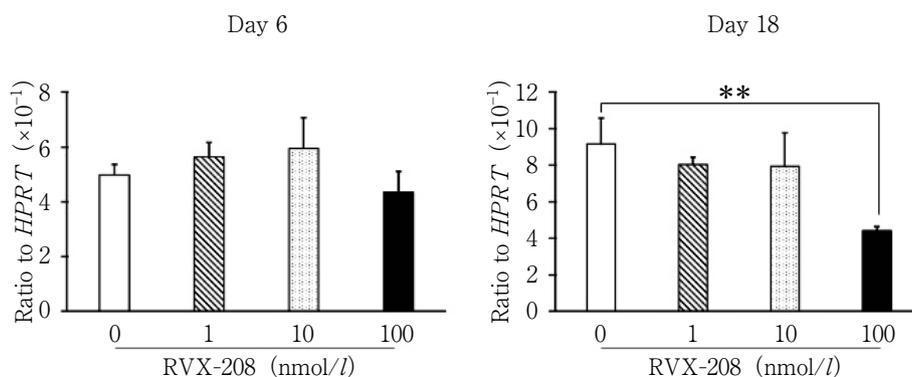
### 4. RVX-208 が hDPC の象牙芽細胞分化関連遺伝子発現に及ぼす影響

さらに、RVX-208 が hDPC の象牙芽細胞分化関連遺伝子の発現に及ぼす影響を検討するために、hDPC を RVX-208 (0~100 nmol/l) 存在下で石灰化誘導培地にて培養し、hDPC における象牙芽細胞分化関連遺伝子の発現をリアルタイム PCR 法にて検討した。リアルタイム PCR 解析の結果、培養 6 日目において、RVX-208 は濃度依存的に、hDPC における *ALPL* および *COL1A1* (象牙芽細胞の初期分化マーカー) の遺伝子発現を低下させた (Fig. 4-a, b)。一方、RVX-208 は、hDPC における *DSPP* および *DMP1* (成熟象牙芽細胞のマーカー) の遺伝子発現を上昇させた (Fig. 4-c, d)。さらに、石灰化誘導初期 (培養 6 日目) においては、RVX-208 の有無により hDPC の *RUNX2* 遺伝子発現に有意な差を認めなかったが (Fig. 5 left)、石灰化誘導の後期 (培養 18 日目) において、100 nmol/l RVX-208 は、hDPC における *RUNX2* 遺伝子発現を有意に抑制した (Fig. 5 right)。



**Fig. 4** Effect of RVX-208 on mRNA expression of odontoblast-related genes during cytodifferentiation of hDPC

hDPC was cultured in calcification medium in the presence of RVX-208 (0-100 nmol/l) for 6 days and mRNA expression of (a) *ALPL*, (b) *COL1A1*, (c) *DSPP* and (d) *DMP1* in hDPC was analyzed by real-time PCR. Values represent the mean  $\pm$ SD of triplicate assays. \* :  $p < 0.05$ , \*\* :  $p < 0.01$ , \*\*\* :  $p < 0.001$ , compared with 0 nmol/l of RVX-208



**Fig. 5** Effect of RVX-208 on *RUNX2* mRNA expression during cytodifferentiation of hDPC

hDPC was cultured in calcification medium in the presence of RVX-208 (0-100 nmol/l) and *RUNX2* mRNA expression was analyzed by real-time PCR on day 6 (left) and 18 (right) of cytodifferentiation of hDPC. Values represent the mean  $\pm$ SD of triplicate assays. \*\* :  $p < 0.01$ , compared with 0 nmol/l of RVX-208.

## 考 察

現在、直接覆髄法に使用されている水酸化カルシウム製剤やMTAは、抗菌性・殺菌作用を示す一方で、高アルカリ性のpHによって歯髄組織を壊死させることが知られている。水酸化カルシウム製剤は、塗布後24時間でpH 11前後を示し<sup>11)</sup>、MTAは硬化直後（塗布後3時間）のpHが最も高くpH 12.5となることが報告されている<sup>12)</sup>。また、これらの材料が歯髄細胞の増殖能に及ぼす影響について検討した*in vitro*の研究より、水酸化カルシウム製剤添加群は、0~24時間で歯髄細胞数が減少し、MTA添加群では24~72時間において歯髄細胞の増殖能が減少することが明らかとなっている<sup>11,13)</sup>。一方、本研究において、RVX-208はhDPCに対して細胞毒性を示さないことが明らかとなった。さらに、RVX-208はhDPCの増殖を抑制することもなかった。現在用いられているMTAや水酸化カルシウム製剤が、歯髄組織の壊死を引き起こすことを考えると、RVX-208は組織親和性の高い、安全な直接覆髄剤の要件を満たしていると考えられた。さらに、RVX-208は同細胞の石灰化を促進させることが明らかとなった。すなわち、RVX-208は歯髄細胞の硬組織形成細胞への分化を促進することで、歯髄の石灰化を誘導する機能を有することが示された。

RVX-208は、ヒストンとBETタンパクの相互作用を競合的に阻害することで、転写および転写後に起こる遺伝子発現をエピジェネティクスに変化させる機能をもつ<sup>14)</sup>。これまでに、歯髄幹細胞の分化誘導にヒストンタンパクのエピジェネティクスな修飾が重要な役割をもつことが報告されている。一例として、Choら<sup>15)</sup>は*in vitro*において、ヒト歯髄幹細胞にヒストン脱アセチル化酵素阻害剤であるバルプロ酸を添加すると、*Osterix*、*Osteopontin*および*RUNX2*といった骨関連遺伝子の転写が促進され、同細胞の分化および石灰化が促進されることを報告している。われわれの研究成果においても、ヒト歯髄細胞をRVX-208存在下で硬組織形成細胞へと分化誘導すると、分化の初期において、hDPCは成熟象牙芽細胞のフェノタイプ（*ALPL*および*COL1A1*遺伝子の発現低下ならびに*DSPP*および*DMP1*遺伝子の発現上昇<sup>16)</sup>）を示したことから、RVX-208はhDPCの象牙芽細胞様細胞への分化を促進させることが明らかとなった。すなわち、歯髄細胞に含まれる未分化間葉系細胞の分化制御には、エピジェネティクスな転写が鍵となることが裏付けられた。さらに、歯髄細胞の分化制御には、バルプロ酸のようなクロマチンの翻訳後修飾によるエピジェネティクスな転写制御のみならず、BETタンパクを介した転写制御も関与することが本研究成果によって初

めて明らかとなった。

BETファミリータンパクは、Bromodomain-containing protein 2-4 (BRD2-4)とBromodomain testis-specific protein (BRDT)の4つのタンパク質で構成されている。なかでも代表的なBETタンパクであるBRD4は、骨関連遺伝子のプロモーターの*RUNX2*結合領域に結合することで、骨芽細胞の分化制御や骨の恒常性維持に重要な役割を担う<sup>9,17)</sup>。BET阻害剤の一つであるJQ1は、BRD4のドメインであるBromodomain 1と2 (BD1とBD2)の両方を標的とする。そのため、継続してJQ1存在下で未分化な骨芽細胞を培養すると、*RUNX2*や*ALPL*などの骨関連遺伝子の発現を顕著に抑制する。しかし、JQ1非存在下で同細胞を培養すると、その抑制効果は可逆的に解除される<sup>9,17)</sup>。一方、BD2選択的阻害因子であるRVX-208の調節機能は、汎BET抑制因子であるJQ1と比較すると限定的である<sup>18)</sup>。われわれの研究結果においても、RVX-208はヒト歯髄細胞の石灰化誘導の初期段階においては*RUNX2*の遺伝子発現に影響を及ぼさなかったが、持続的に100 nmol/lのRVX-208をヒト歯髄細胞に添加すると、石灰化誘導の後期においてヒト歯髄細胞における*RUNX2*遺伝子の発現が抑制されることが明らかとなった。一般的に、石灰化誘導過程における*RUNX2*遺伝子の発現パターンは、細胞分化の初期段階では*RUNX2*遺伝子の発現上昇を認め、細胞分化の後期では*RUNX2*遺伝子発現が抑制される<sup>19)</sup>。この報告とわれわれの研究成果より、RVX-208は象牙芽細胞への分化の後期・石灰化における*RUNX2*遺伝子の発現を抑制することで、歯髄における硬組織形成をより促進させることが示唆される。一方JQ1は、石灰化誘導の初期段階から持続的に*RUNX2*の遺伝子発現を顕著に抑制するため、硬組織形成細胞への分化、さらにその後続く石灰化物の形成を抑制する<sup>9,17)</sup>。

現在、エピジェネティクスを標的とした分子標的薬の開発が先天性疾患やガン研究の分野などで進んでおり、すでにいくつかの薬剤は治療薬として利用されている。たとえば、骨髄異形成症候群治療薬として臨床で用いられているDNAメチル化酵素阻害剤であるアザシチジンや<sup>20)</sup>、皮膚T細胞リンパ腫の治療薬として使用されているヒストン脱アセチル化酵素であるロミデプシンが挙げられる<sup>21)</sup>。これらの事実は、エピジェネティクスを標的とした既存薬の新規機能を探索することにより、その既存薬を別の疾患の治療に応用することが可能であることを示唆している。本研究で使用したRVX-208は、心血管疾患に対する経口治療薬として現在開発が進められており、同剤投与により心疾患マーカー分子の発現が調節されることで、有害な心血管系イベントの発生率が低下することが報告されている<sup>22)</sup>。RVX-208は自然由来の

低分子化合物で、低い全身クリアランス率 (5 ml/min/kg) を示し、比較的短い半減期 (1.5 時間) で、44%の経口バイオアベイラビリティを示すことが報告されている<sup>23)</sup>。このように、RVX-208は人体に対する安全性を有し、薬物動態の情報も明確であることから、エピジェネティクス機構を発揮するほかの分子標的薬と比較してドラッグ・リポジショニングが容易な薬剤であると考えられる。これらの報告と本研究の結果から、RVX-208は歯髄幹細胞の象牙芽細胞様細胞への分化を誘導し、損傷部の硬組織 (修復象牙質) 形成を促すことが可能な副作用の少ない新規直接覆髄剤となりうる事が期待できる。

今後、*in vitro*におけるRVX-208の歯髄幹細胞の分化誘導機構についてのさらなる解明、封鎖性を発揮するRVX-208と混和する足場材の探索、さらに、同定された足場材とRVX-208の混和物の効果を*in vivo*実験により明らかにすることで、有効な直接覆髄法の一つとしてRVX-208の応用が実現されるものと期待される。

## 結 論

RVX-208は、歯髄細胞を傷害することなく、歯髄細胞の硬組織形成細胞への分化および石灰化を促進することが示された。すなわち、RVX-208は、直接覆髄剤に必要な歯髄親和性および石灰化促進作用をもつことが明らかとなった。

本研究は、大阪大学 女性研究者に対する研究費支援およびJSPS 科研費 T19K227140の助成を受けたものである。

本論文に関して、開示すべき利益相反状態はない。

## 文 献

- Hargreaves KM, Goodis HE, Tay FR, Seltzer and Bender's dental pulp. 2nd ed. Quintessence Publishing: Hanover Park; 2012. 1-501.
- Leye Benoist F, Gaye Ndiaye F, Kane AW, Benoist HM, Farge P. Evaluation of mineral trioxide aggregate (MTA) versus calcium hydroxide cement (Dycal) in the formation of a dentine bridge: a randomised controlled trial. *Int Dent J* 2012; 62: 33-39.
- 高山廣光. 未利用薬用資源植物から創薬シード分子を探す. *化学と生物* 2002; 40: 676-682.
- Ikeda I. Multifunctional effects of green tea catechins on prevention of the metabolic syndrome. *Asia Pac J Clin Nutr* 2008; 17: 273-274.
- 吉岡弘鎮. 細胞障害性化学療法の基本. *肺癌* 2019; 59: 1111-1114.
- Bailey D, Jahagirdar R, Gordon A, Hafiane A, Campbell S, Chatur S, Wagner GS, Hansen HC, Chiacchia FS, Johansson J, Krimbou L, Wong NC, Genest J. RVX-208 a small molecule that increases apolipoprotein A-I and high-density lipoprotein cholesterol *in vitro* and *in vivo*. *J Am Coll Cardiol* 2010; 55: 2580-2589.
- Jahagirdar R, Zhang H, Azhar S, Tobin J, Attwell S, Yu R, Wu J, McLure KG, Hansen HC, Wagner GS, Young PR, Srivastava RA, Wong NC, Johansson J. A novel BET bromodomain inhibitor, RVX-208, shows reduction of atherosclerosis in hyperlipidemic ApoE deficient mice. *Atherosclerosis* 2014; 236: 91-100.
- Nicholas JC. Bromodomain and extraterminal domain (BET) inhibitor RVX-208 ameliorates periodontal bone loss. *Virginia Commonwealth University* 2018; 1-69.
- Lamoureux F, Baud'huin M, Rodriguez Calleja L, Jacques C, Berreur M, Rédini F, Lecanda F, Bradner JE, Heymann D, Ory B. Selective inhibition of BET bromodomain epigenetic signalling interferes with the bone-associated tumour vicious cycle. *Nat Commun* 2014; 5: 3511.
- Dahl LK, Dole VP. The biphasic nature of renal calcification. *J Exp Med* 1952; 95: 341-346.
- 星加知宏, 勝俣愛一郎, 丁 群展, 西谷登美子, 高 裕子, 勝俣 環, 根本 章, 伊藤誠之, 岩田知幸, 林 宏昌, 永山雅大, 永山祥子, 西谷佳浩. 新規覆髄剤の細胞増殖ならびに象牙質剪断接着強さへの影響について. *日歯保存誌* 2019; 62: 208-214.
- Torabinejad M, Hong CU, McDonald F, PittFord TR. Physical and chemical properties of a new root-end filling material. *J Endod* 1995; 21: 349-353.
- 鈴木茂樹, 永安慎太郎, 荒川 真, 小武家誠司, 星野博昭, 箸方厚之, 本山智得, 西村英紀. Matrix trioxide aggregate (MTA) の歯髄細胞接着・増殖・アポトーシスに及ぼす効果の検討. *日歯保存誌* 2014; 57: 547-554.
- Tsujikawa LM, Fu L, Das S, Halliday C, Rakai BD, Stotz SC, Sarsons CD, Gilham D, Daze E, Wasiak S, Studer D, Rinker KD, Sweeney M, Johansson JO, Wong NCW, Kulikowski E. Apabetalone (RVX-208) reduces vascular inflammation *in vitro* and in CVD patients by a BET-dependent epigenetic mechanism. *Clin Epigenetics* 2019; 11: 102.
- Cho HH, Park HT, Kim YJ, Bae YC, Suh KT, Jung JS. Induction of osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells by histone deacetylase inhibitors. *J Cell Biochem* 2005; 96: 533-542.
- Baldion PA, Valandia-Romero ML, Castellanos JE. Odontoblast-like cells differentiated from dental pulp stem cells retain their phenotype after subcultivation. *Int J Cell Biol* 2018; 19: 6853189.
- Paradise CR, Galvan ML, Kubrova E, Bowden S, Liu E, Carstens MF, Thaler R, Stein GS, van Wijnen AJ, Duda-

- kovic A. The epigenetic reader Brd4 is required for osteoblast differentiation. *J Cell Physiol* 2020; 235: 5293-5304.
- 18) Picaud S, Wells C, Felletar I, Brotherton D, Martin S, Savitsky P, Diez-Dacal B, Philpott M, Bountra C, Lingard H, Fedorov O, Müller S, Brennan PE, Knapp S, Filippakopoulos P. RVX-208, an inhibitor of BET transcriptional regulators with selectivity for the second bromodomain. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110: 19754-19759.
- 19) Komori T. Requisite roles of Runx2 and Cbfb in skeletal development. *J Bone Miner Metab* 2003; 21: 193-197.
- 20) Seymour JF, Döhner H, Butrym A, Wierzbowska A, Selleslag D, Jang JH, Kumar R, Cavenagh J, Schuh AC, Candoni A, Récher C, Sandhu I, Del Castillo TB, Al-Ali HK, Falantes J, Stone RM, Minden MD, Weaver J, Songer S, Beach CL, Dombret H. Azacitidine improves clinical outcomes in older patients with acute myeloid leukaemia with myelodysplasia-related changes compared with conventional care regimens. *BMC Cancer* 2014; 17: doi: 10.1186/s12885-017-3803-6.
- 21) 呂 時空, 中山直樹, 阿知和宏行, 大津智子. ロミデプシン (イストダックス® 点滴静注用 10 mg) の薬理的/薬物動態学的特性および臨床試験成績. *日薬理誌* 2018; 151 : 122-129.
- 22) Siebel AL, Trinh SK, Formosa MF, Mundra PA, Natoli AK, Reddy-Luthmoodoo M, Huynh K, Khan AA, Carey AL, van Hall G, Cobelli C, Dalla-Man C, Otvos JD, Rye KA, Johansson J, Gordon A, Wong NC, Sviridov D, Barter P, Duffy SJ, Meikle PJ, Kingwell BA. Effects of the BET-inhibitor, RVX-208 on the HDL lipidome and glucose metabolism in individuals with prediabetes: a randomized controlled trial. *Metabolism* 2016; 65: 904-914.
- 23) Ghosh GC, Bhadra R, Ghosh RK, Banerjee K, Gupta A. RVX 208: A novel BET protein inhibitor, role as an inducer of Apo A-I/HDL and beyond. *Cardiovasc Ther* 2017; 35: doi: 10.1111/1755.5922.12265.

# The Functional Analysis of RVX-208 in Human Dental Pulp Cells: An Initiative for the Application of a Bioactive Compound, RV-208, on Direct Pulp Capping

MATSUMOTO Masahiro, FUJIHARA Chiharu, SHIMABUKURO Yoshio,  
YAMAMOTO Yu, NANTAKEERATIPAT Teerachate, KITAGAKI Jirouta,  
YAGI Hiroko, HAYASHI Satoko, IWAYAMA Tomoaki,  
KASHIWAGI Yoichiro, MIKI Koji, KITAMURA Masahiro,  
SAWADA Keigo, KINOSHITA Mayu and MURAKAMI Shinya

Department of Periodontology, Division of Oral Biology and Disease Control, Osaka University Graduate School of Dentistry

## Abstract

**Purpose:** Calcium hydroxide and mineral trioxide aggregate (MTA) are the most widely used for direct pulp capping. However, these agents induce the large pulp necrosis beneath the materials. Therefore, there is a need to develop non-toxic agents for pulp capping. RVX-208, a bioactive compound, plays important roles in inflammation and bone metabolism by epigenetic regulation of the expression of various genes. However, the functions of RVX-208 in dental pulp cells are still unknown. Thus, in this study, we investigated the toxicity and functions of RVX-208 on dental pulp cells to evaluate whether it offers the necessary features as a good next generation candidate for direct pulp capping materials.

**Methods:** The first premolars were extracted from patients undergoing orthodontic treatment at the Osaka University Dental Hospital. Then, dental pulp was extracted from the premolars and human dental pulp cells (hDPC) were isolated by primary outgrowth cultures. The cytotoxicity of RVX-208 on hDPC was examined by probidium iodide (PI) staining. The effect of RVX-208 on proliferation of hDPC was analyzed using Bromodeoxyuridine (BrdU) assay. In addition, the effect of RVX-208 on calcification nodules produced by cytodifferentiation of hDPC was evaluated by alizarin staining. Furthermore, the effect of RVX-208 on mRNA expression of odontoblast-related genes during cytodifferentiation of hDPC was examined by real-time PCR.

**Results:** The frequency of occurrence of PI<sup>+</sup> cells was not significantly different between hDPC in the presence of 1, 10, 100 and 0 nmol/l of RVX-208. BrdU assay revealed that RVX-208 (0-100 nmol/l) did not affect the proliferation of hDPC. In contrast, on day 18 of cytodifferentiation of hDPC, alizarin staining showed that RVX-208 increased the calcification nodules of hDPC in a concentration-dependent manner. In addition, real-time PCR analysis revealed that *DSPP* and *DMPI* mRNA expression was up-regulated in hDPC treated with RVX-208 during cytodifferentiation, whereas *ALPL* and *COL1A1* mRNA expression was down-regulated in these cells. On day 6 of cytodifferentiation of hDPC, there was no significant difference in *RUNX2* mRNA expression between hDPC treated with or without RVX-208. In contrast, on day 18, *RUNX2* mRNA expression was significantly down-regulated in hDPC treated with 100 nmol/l of RVX-208, compared to that treated without RVX-208.

**Conclusion:** A bioactive compound, RVX-208, enhanced cytodifferentiation and calcification of dental pulp cells. RVX-208 might be a good candidate for a safe and effective biological direct pulp capping agent.

**Key words:** RVX-208, human dental pulp cells, direct pulp capping agent

## ユニバーサルアドヒーシブへの光線照射の有無が 自己接着性レジンセメントの歯質接着性に及ぼす影響

石井 亮<sup>1,2</sup> 高見澤 俊 樹<sup>1,2</sup> 野尻 貴 絵<sup>1</sup>  
辻本 暁 正<sup>1,2</sup> 甘利 佳 之<sup>1</sup> 奥脇 岳 人<sup>1</sup>  
飯島 達 也<sup>1</sup> 宮崎 真 至<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>日本大学歯学部保存学教室修復学講座

<sup>2</sup>日本大学歯学部総合歯学研究所生体工学研究部門

### 抄録

目的：汎用性に優れたユニバーサルアドヒーシブは、自己接着性レジンセメント（自己接着セメント）の前処理材として使用可能であるが、その詳細については不明な点が多い。そこで、ユニバーサルアドヒーシブへの光線照射の有無が自己接着セメントの歯質接着性に及ぼす影響について、剪断接着強さ試験および接着界面の走査電子顕微鏡（SEM）観察を行うことによって検討した。

材料と方法：供試したユニバーサルアドヒーシブと自己接着セメントとの組合せは、OptiBond Universal/Maxcem Elite Chroma, G-Premio Bond/G-CEM LinkAce および Scotchbond Universal/RelyX Unicem 2 Automix である。接着試片の製作に際して、ウシ下顎前歯歯冠部を用い、エナメル質あるいは象牙質平坦面を耐水性 SiC ペーパー #320 を用いて研削し、これらを被着歯面とした。歯面処理として、ユニバーサルアドヒーシブをセルフエッチモードとして製造者指示条件に従って塗布した後、照射を行うもの（照射群）とこれを行わないもの（非照射群）の2条件とした。次いで、内径 2.4 mm、高さ 2 mm のリング状ステンレス型にセメント泥を充填してこれに光照射を行い、37°C 精製水中に 24 時間保管した。保管後の試片について、万能試験機を用いてクロスヘッドスピード 1.0 mm/min の条件で剪断接着強さを測定し、得られた値から各条件の接着強さ (MPa) を求めた (n=10)。得られたデータに関しては、一元配置分散分析および Tukey HSD test によって有意水準 5% の条件で統計学的検討を行った。さらに、エナメル質および象牙質との接着界面について、通法に従って SEM 観察を行った。

結果：接着強さ試験の結果から、エナメル質および象牙質いずれの被着歯面においても自己接着セメントの違いによって接着強さは異なるものの、ユニバーサルアドヒーシブの塗布およびその光照射は、接着強さの向上に寄与する傾向が認められた。また、SEM 観察の結果からアドヒーシブへの照射を行った試片で、これを行わなかった試片と比較して厚いアドヒーシブ層が観察され、これが接着強さの向上に寄与した可能性が考えられた。

結論：自己接着セメントの前処理材としてユニバーサルアドヒーシブを用いる際には、製品によってその傾向は異なるものの、アドヒーシブへの適切な光照射を行うことで歯質接着性の向上が期待できることが示唆された。

キーワード：自己接着性レジンセメント、ユニバーサルアドヒーシブ、光照射、接着強さ、SEM 観察

責任著者連絡先：石井 亮

〒 101-8310 東京都千代田区神田駿河台 1-8-13 日本大学歯学部保存学教室修復学講座

TEL : 03-3219-8141, FAX : 03-3219-8347, E-mail : ishii.ryou@nihon-u.ac.jp

受付：2020年9月15日/受理：2020年11月6日

DOI : 10.11471/shikahozon.63.536

## 緒言

患者および術者相方からの審美性に対する要求の高まりから、歯冠色を有する間接修復物が選択される症例が増加するのに伴って、装着材としてレジンセメントを用いる頻度が高くなっている<sup>1)</sup>。これまで、レジンセメントを用いた修復物の装着に際しては、歯冠修復物内面とともに支台歯に適した前処理を行うことが必要であるとされて、プライマー塗布などが行われてきた<sup>2)</sup>。一方、これらプライマーの使用は臨床ステップを複雑にするとともに、テクニックセンシティブ因子を増加させることにつながる可能性がある。このような臨床背景の下に、レジンセメントを用いた歯冠修復物の装着をより簡便であるとともに確実にしたいという臨床要求が高まり、被着面に対する前処理不要の自己接着性レジンセメント(以後、自己接着セメント)が開発された<sup>3)</sup>。

自己接着セメントは、その組成中に機能性モノマーを含有することで、歯質および修復物への前処理を不要としたものであり、臨床操作性を飛躍的に向上するものとされている<sup>4)</sup>。さらに、各被着面に適したプライマーを塗布するレジンセメントと比較して、修復物装着時の操作ステップの簡略化によってチェアタイムを短縮するとともに、装着時に生じるテクニックセンシティブ因子を低減しているとの報告もある<sup>5)</sup>。一方、歯質に対して可及的に高い接着性が求められる大型のアンレー窩洞形態あるいはセラミックスなどの審美脆性材料を用いた歯冠修復物においては、自己接着セメントになんらかの補助的手法を付加することが求められる症例もある。そこで、自己接着セメントを使用する際に接着性を向上させることを目的として、汎用性に優れるとともに術式が簡便なユニバーサルアドヒーシブ(以後、アドヒーシブ)を前処理として用いることも提唱されている<sup>6,7)</sup>。しかし、アドヒーシブ塗布の効果とともに、アドヒーシブへの光照射の有無に関しては不明な点が多い。

そこで本研究では、自己接着セメントの臨床術式を確立する研究の一環として、被着歯面の前処理として塗布されたアドヒーシブへの光照射が自己接着セメントの接着性に及ぼす影響について、剪断接着強さ試験および接着界面の走査電子顕微鏡(SEM)観察を行うことにより検討した。

## 材料および方法

### 1. 供試材料および可視光線照射器

供試したアドヒーシブおよび自己接着セメントを、Table 1, 2に示した。アドヒーシブとしては、OptiBond

Universal (OU, Kerr, USA), G-Premio Bond (GP, ジーシー) および Scotchbond Universal (SU, 3M Oral Care, USA) の3製品を用いた。自己接着セメントとしては、Maxcem Elite Chroma (ME, Kerr), G-CEM LinkAce (GL, ジーシー) および RelyX Unicem 2 Automix (RU, 3M Oral Care) の3製品を同一製造者のアドヒーシブと併用した。また可視光線照射器(Optilux 501, Kerr) は、その光強度が600 mW/cm<sup>2</sup>以上であることを確認して実験に使用した。

### 2. 接着強さの測定

接着試験測定用試片の製作に際しては、ウシ(2~3歳齢)の下顎前歯の歯冠部のみを常温重合レジン(トレーレジンII, 松風)に包埋し、直径6~8 mm程度のエナメル質あるいは象牙質平坦面が得られるように唇側中央部を研削した。次いで、この面を耐水性シリコンカーバイドペーパーの#320で研削し、被着歯面とした。

これらの被着歯面に対しては、アドヒーシブをセルフエッチングモードとして製造者指示に従って塗布、エアブローを行った。次いで、アドヒーシブへ光照射を行う(照射群)、あるいは照射を行わない(非照射群)という2条件を設定するとともに、アドヒーシブを塗布せず自己接着セメントのみを用いた試片をコントロールとした。次いで、内径2.4 mm、高さ2 mmのリング状ステンレス(SUS 304)型に練和したセメント泥を填塞し、填塞面を透明ストリップスで圧接した面に30秒間光照射を行った。なお、アドヒーシブと自己接着セメントの組合せは、同一製造者の製品とした。

試片を、照射直後から37°C精製水中に24時間保管した後、万能試験機(Type 5500R, Instron, USA)を用い、クロスヘッドスピード1.0 mm/minの条件で剪断接着強さを測定し平均値および標準偏差を求めた。各条件における試片の数は10個とし、接着試験終了後の試片については、実態顕微鏡(SZH-131, オリンパス)を用いてレジン側、歯質側および自己接着セメント側破断面を観察し、界面破壊、歯質あるいはレジンセメントの凝集破壊および混合破壊として分類した。

### 3. SEM観察

自己接着セメントと歯質との接合界面の観察に際しては、接着試験用試片と同様に製作した試片を37°C精製水中に24時間水中保管した後、エポキシ樹脂(Epon520, 日新EM)に包埋した。樹脂が硬化した後、低速精密切断機(IsoMet 4000, Buehler, USA)を用いて注水下で縦断し、この面をダイヤモンドペーストの粒径0.25 μmまで順次研磨してSEM観察用試片とした。これらの試片は、tert-ブタノール濃度上昇系列に順次浸漬した後、凍結乾燥機(Model ID-3, エリオニクス)を用いてフリーズドライし、加速電圧1.0 kV、イオン流密度1.2

**Table 1** Universal adhesive used in this study

Universal adhesive (Code)	Main component	Manufacturer	Lot No.
OptiBond Universal (OU)	UDMA, TEGDMA, silica-zirconia filler	Kerr (USA)	6689301
G-Premio Bond (GP)	MDP, 4-MET, MEPS, methacrylate monomer, acetone, water, silica, initiator	GC	1611011
Scotchbond Universal (SU)	Bis-GMA, HEMA, decamethylene dimethacrylate, ethyl methacrylate, propenoic acid, methyl-reaction products with decanediol and phosphorous oxide, copolymer of acrylic and itaconic acid, dimethylaminobenzoate, methyl ethyl ketone, ethanol, water, silane treated silica, initiator	3M Oral Care (USA)	80822C

UDMA : urethane dimethacrylate, TEGDMA : triethyleneglycol dimethacrylate, MDP : 10-methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate, 4-MET : 4-methacryloyloxyethyl trimellitate, MEPS : methacryloyloxyalkyl thiophosphate methylmethacrylate, Bis-GMA : 2,2-bis[4-(2-hydroxy-3-methacryloyloxypropoxy) phenyl] propane, HEMA : 2-hydroxyethyl methacrylate.

**Table 2** Self-adhesive resin cement used in this study

Self-adhesive resin cement (Code)	Main component	Manufacturer	Lot No.
Maxcem Elite Chroma (ME)	HEMA, GDM, UDMA, 1,1,3,3-tetramethylbutyl hydroperoxide, TEGDMA, fluoroaluminosilicate glass, GPDM, barium glass filler, fumed silica	Kerr (USA)	7198588
G-CEM LinkAce (GL)	UDMA, dimethacrylate, phosphonate monomer, $\gamma$ -methacryloxypropyltrimethoxysilane, $\alpha, \alpha$ -dimethyl-benzyl hydroperoxide, fluoro-aluminosilicate glass, silicon dioxide, initiator, inhibitor, pigment	GC	1906171
RelyX Unicem 2 Automix (RU)	propanediyl dimethacrylate and phosphorus oxide, substitute dimethacrylate, TEGDMA, 2-propenoic acid, 2-methyl-, 1,1'-[1-(hydroxymethyl)-1,2-eth-enediyl] ester, silane treated glass powder, silane treated silica, sodium persulfate, glass powder, tert-butyl peroxy-3,5,5-trimethylhexanoate, copper (II) acetate monohydrate, 1,12-dodecane dimethacrylate, 1-benzyl-5-phenyl-barbic-acid, calcium salt, sodium p-toluenesulfinate, calcium hydroxide, methacrylated aliphatic amine, titanium dioxide	3M Oral Care (USA)	6054585

HEMA : 2-hydroxyethyl methacrylate, GDM : glycerol 1,3-dimethacrylate, UDMA : urethane dimethacrylate, TEGDMA : triethyleneglycol dimethacrylate, GPDM : glyceroldimethacrylate dihydrogen phosphate.

mA/cm<sup>2</sup> の条件でアルゴンイオンエッチング (EIS-200 ER, エリオニクス) を 30 秒間行った。次いで、イオンコーター (Quick Coater Type SC-201, サンユー電子) を用いて金蒸着を行い、フィールドエミッション型 SEM (ERA-8800 FE, エリオニクス) を用いて、加速電圧 10 kV の条件で観察した。

#### 4. 統計処理

得られた測定値については、統計用ソフトウェア (Sigma Plot version 13.0, Systat Software, USA) を用いて、一元配置分散分析および Tukey HSD test によって有意水準 5% の条件で統計学的検討を行った。

## 結 果

### 1. 接着強さ

アドヒーシブへの照射の有無が自己接着セメントの歯質接着性に及ぼす影響を、Table 3 に示した。

エナメル質接着強さは、コントロールと比較するとアドヒーシブを併用することによって有意に高い値を示した。また、アドヒーシブへの光線照射の有無で比較すると、ME および GL において有意に高い値を示し、RU では有意差は認められなかった。象牙質接着強さは、エナ

**Table 3** Influence of light irradiation to universal adhesives on bond strength of self-adhesive resin cements

Resin cement	Adhesive	Light irradiation	Enamel	Dentin
ME	Control		4.8 (0.8) <sup>e</sup>	4.6 (1.9) <sup>e</sup>
	OU	with	21.7 (1.4) <sup>a</sup>	22.2 (4.0) <sup>a</sup>
	OU	without	18.6 (3.0) <sup>b</sup>	17.0 (2.3) <sup>b</sup>
GL	Control		5.6 (0.9) <sup>d</sup>	4.7 (1.4) <sup>e</sup>
	GP	with	15.2 (2.3) <sup>b</sup>	12.4 (2.2) <sup>c</sup>
	GP	without	13.1 (1.8) <sup>c</sup>	9.3 (1.2) <sup>d</sup>
RU	Control		4.4 (1.0) <sup>e</sup>	5.3 (1.5) <sup>e</sup>
	SU	with	17.2 (2.0) <sup>b</sup>	17.9 (3.2) <sup>b</sup>
	SU	without	16.3 (1.4) <sup>b</sup>	14.6 (1.8) <sup>c</sup>

n=10, unit : MPa

Same small case letter in vertical columns indicates no difference at 5% significance level.

**Table 4** Failure mode analysis of de-donded specimens

Resin cement	Adhesive	Light irradiation	Enamel	Dentin
ME	Control		[100/0/0/0]	[100/0/0/0]
	OU	with	[100/0/0/0]	[87/0/0/13]
	OU	without	[100/0/0/0]	[100/0/0/0]
GL	Control		[100/0/0/0]	[100/0/0/0]
	GP	with	[100/0/0/0]	[100/0/0/0]
	GP	without	[100/0/0/0]	[100/0/0/0]
RU	Control		[100/0/0/0]	[100/0/0/0]
	SU	with	[100/0/0/0]	[93/0/0/7]
	SU	without	[100/0/0/0]	[100/0/0/0]

n=10

Failure mode : [adhesive failure/cohesive failure in resin cement/cohesive failure in tooth/mixed failure] percentage of each failure mode.

メル質と同様にアドヒーズを併用することで有意に高い値を示し、照射群は非照射群と比較して有意に高い接着強さを示した。

## 2. 破壊形式

接着試験終了後の破断面における破壊形式を、Table 4に示した。すなわち、試験終了後の破断面における破壊形式は、コントロールを含めていずれの被着体および照射条件にかかわらず界面破壊が大勢を占める傾向を示した。

## 3. SEM 観察

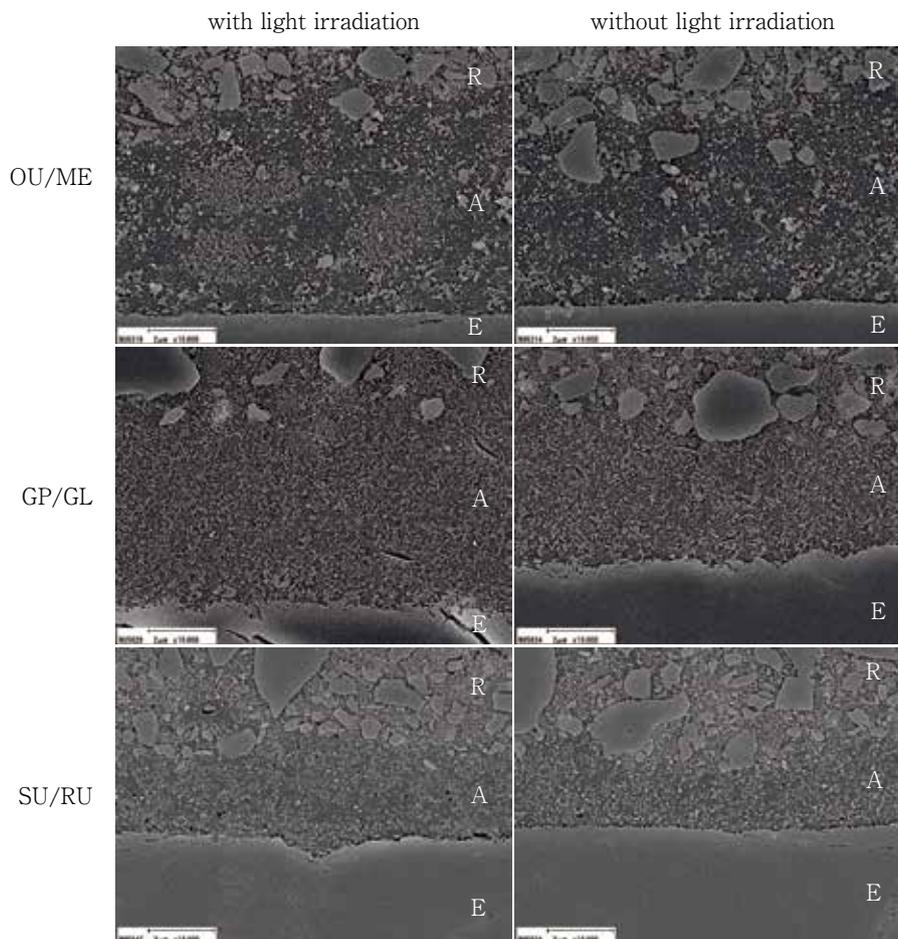
自己接着セメントの、エナメル質接合界面のSEM像をFig. 1に示した。いずれの自己接着セメントにおいても、エナメル質との接合状態はアドヒーズへの光照射条件にかかわらず良好であった。また、各アドヒーズ

への照射条件で比較すると、照射群で非照射群と比較してアドヒーズ層が厚くなる傾向を示した。

自己接着セメントの、象牙質における接合界面のSEM像をFig. 2に示した。象牙質に対するレジンセメントの接合状態は、アドヒーズの有無あるいは光照射条件にかかわらず良好であり、象牙細管内に浸透したレジントグが観察された。またアドヒーズ層は、エナメル質と同様に照射群で厚くなる傾向を示した。

## 考 察

歯質と同様の色調を有するセラミックスあるいはCAD/CAM レジン冠の装着には、機械的強度が高く辺縁封鎖性に優れたレジンセメントが使用されている<sup>8,9)</sup>。



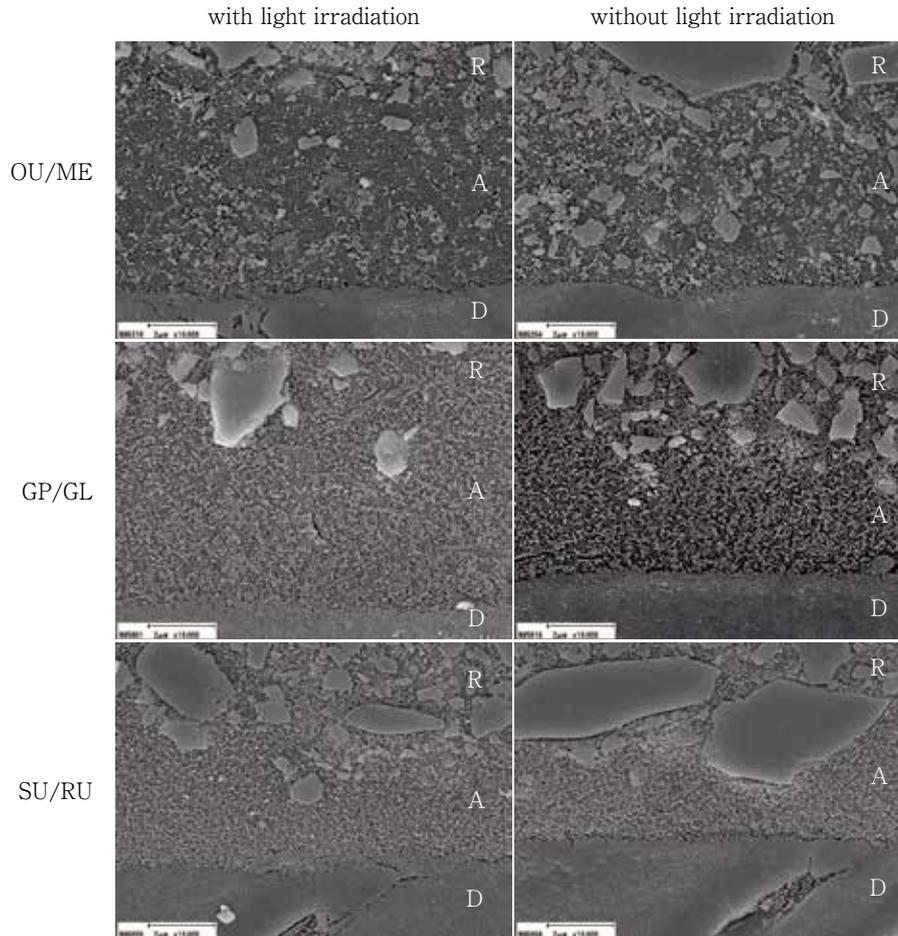
**Fig. 1** SEM observation of resin cements-enamel interfaces  
R : resin cement, A : adhesive, E : enamel (original magnification :  $\times 10,000$ )

これまで、レジンセメントを用いた装着に際しては、修復物とともに支台歯それぞれに適した前処理が必要であり、装着時の操作が煩雑となるためにこれがテクニックセンシティブ因子となることが指摘されていた<sup>10)</sup>。そこで、歯冠修復物の装着に際して操作ステップを簡略化した自己接着セメントが開発、臨床応用されるようになった<sup>11)</sup>。一方、症例によっては自己接着セメントの接着耐久性を向上させることが求められ、多種多様な被着体に接着可能であるアドヒーズブを前処理材として用いる臨床術式が提唱された<sup>12,13)</sup>。しかし、塗布されたアドヒーズブに対する光照射の有無など、その臨床術式については不明な点が多い。そこで、前処理材として使用するアドヒーズブへの光照射が自己接着セメントの歯質接着性に及ぼす影響について検討した。

本研究には、剪断接着強さ試験用試片の制作に際して、内径2.4 mm、高さ2 mmのリング状ステンレス型を使用する mold-enclosed method を採用した<sup>14)</sup>。この試験法はステンレス型を用いることによって剪断接着試験時の応力分散を均等化することが可能となるとともに、

レジンセメントの機械的性質の違いが接着強さに及ぼす影響を低減化するとされている。また、接着界面を歯質とレジンセメント間に限定することから、本法を用いることによって、得られたデータのバラつきが少なくなるとともに安定したデータを得ることができたものと考えられた。

Mold-enclosed method を用いた接着試験の結果から、いずれの自己接着セメントにおいても、アドヒーズブを併用すると光照射の有無にかかわらずコントロールと比較して有意に高い接着強さが得られた。自己接着セメントは、含有される機能性モノマーが酸として作用することで歯質表面が脱灰し、遊離したカルシウムイオンと化学的に結合するとともに、モノマー成分が歯質表面に浸透・拡散した後に硬化することで微小機械的嵌合力を獲得している<sup>15)</sup>。一方、自己接着セメントはその機械的強度を向上させるためにフィラーが一定量含有されており、相対的にレジンモノマー量が少なくなる。したがってレジンペーストの流動性や歯質へのぬれ性などは、アドヒーズブと比較すると劣ることとなる。したがって、



**Fig. 2** SEM observation of resin cements-dentin interfaces

R : resin cement, A : adhesive, D : dentin (original magnification :  $\times 10,000$ )

アドヒーシブを自己接着セメントの前処理材として併用することによって練和レジンセメントペーストで不足する可能性がある歯質へのぬれ性ととも浸透性を補うことが可能となり、接着強さが有意に向上したものと考えられた<sup>16)</sup>。

次いで、ユニバーサルアドヒーシブへの光照射の有無で接着強さを比較すると、RUのエナメル質に対する接着では差は認められなかったものの、これ以外の条件では非照射群と比較して有意に高い値を示した。一方、接着界面のSEM観察からは、いずれの条件においても照射群は非照射群と比較してアドヒーシブ層が厚くなる傾向を示し、その厚さは1~5 $\mu\text{m}$ であった。アドヒーシブは、照射によって励起したカンファーキノンが還元剤であるアミンと励起錯体を形成してラジカルを生じることで、レジンモノマーの重合が生じ、接着界面に強固なアドヒーシブ層を形成する<sup>17)</sup>。アドヒーシブへの光照射が歯質接着性に及ぼす影響を検討した報告からは、接着強さは光強度が高くなるとともに向上したとされている<sup>18,19)</sup>。したがって、光照射を行った条件で接着強さが

高くなった理由として、セメント泥を硬化させるために行った光照射以外にアドヒーシブ自体への光照射によってアドヒーシブ層の機械的強度が向上し、接着界面付近に生じる応力への抵抗性が高くなったためと考えられた。また、光照射されていないアドヒーシブ中には酸性を示す機能性モノマーが多く残留しており、この上にセメントペーストが充填されるが低いpH環境のために重合性が低下したために、機械的強度も低下した可能性も考えられた<sup>20)</sup>。

さらに、光照射の有無によって生じたアドヒーシブ層の厚みの違いも接着強さに影響を与える因子となった可能性もある<sup>21)</sup>。すなわち、静的荷重負荷によって生じた亀裂の先端にはアドヒーシブ層の塑性変形を伴った塑性変形領域が形成され、その大きさは亀裂の進展に関連するとされ、アドヒーシブ層の厚さが亀裂先端に形成された塑性変形領域に対して十分に厚い条件では応力を分散させることが可能となる<sup>22)</sup>。したがって、照射によってアドヒーシブの厚さが十分に得られた結果、アドヒーシブ層の変形が波及しない堅性変形領域の存在によって亀

裂進展に対する抵抗性が高くなったため、接着性も高くなったものと考えられた。一方SUには、光重合型ではあるが自己接着セメントのRUと接触することによって化学重合開始剤を取り込むことでデュアルキュアとなる硬化反応様式が採用されているところから<sup>23,24)</sup>、特に水分量が少なくレジン成分の重合性が象牙質に比較して有利となるエナメル質において、光照射の有無が接着強さに影響しなかったものと考えられた。

以上のように本研究の結果から、自己接着セメントを使用する際にアドヒーズを併用することで、エナメル質および象牙質接着性を向上させることが可能であることが明らかとなった。また、アドヒーズ塗布後に光照射を行うことよって良好な接着性が得られることが示された。

## 結 論

ユニバーサルアドヒーズへの照射の有無が自己接着性レジンセメントの歯質接着性に及ぼす影響について検討した結果、以下の結論が得られた。

1. 自己接着性レジンセメントは、ユニバーサルアドヒーズへの光照射の有無にかかわらずユニバーサルアドヒーズを併用することで接着性が向上した。
2. ユニバーサルアドヒーズ塗布後、光照射を行うことで適切なアドヒーズ層が形成された結果、自己接着性レジンセメントの接着強さは向上する傾向を示した。
3. 接着界面のSEM観察から、ユニバーサルアドヒーズに光照射を行うことで1~5 $\mu\text{m}$ のアドヒーズ層の形成が確認された。

本論文に関して、開示すべき利益相反状態はない。

## 文 献

- 1) Blatz MB, Vonderheide M, Conejo J. The effect of resin bonding on long-term success of high-strength ceramics. *J Dent Res* 2018; 97: 132-139.
- 2) 小峰 大, 松村英雄. 歯冠修復物と固定性補綴装置の接着と合着. *日補綴会誌* 2012; 4: 343-352.
- 3) Manso AP, Carvalho RM. Dental cements for luting and restorations. Self-adhesive resin cements. *Dent Clin North Am* 2017; 61: 821-834.
- 4) Weiser F, Behr M. Self-adhesive resin cements: A clinical review. *J Prosthodont* 2015; 24: 100-108.
- 5) Solon-de-Mello M, da Silva Fidalgo TK, Dos Santos Letieri A, Masterson D, Granjeiro JM, Monte Alto RV, Maia LC. Longevity of indirect restorations cemented with self-adhesive resin luting with and without selective enamel etching. A systematic review and meta-analysis. *J Esthet Restor Dent* 2019; 31: 327-337.
- 6) Lorenzoni E, Silva F, Pamato S, Kuga MC, S6 MV, Pereira JR. Bond strength of adhesive resin cement with different adhesive systems. *J Clin Exp Dent* 2017; 9: e96-e100.
- 7) Ferreira-Filho RC, Ely C, Amaral RC, Rodrigues JA, Roulet JF, Cassoni A, Reis AF. Effect of different adhesive systems used for immediate dentin sealing on bond strength of a self-adhesive resin cement to dentin. *Oper Dent* 2018; 43: 391-397.
- 8) Peumans M, Valjakova EB, De Munck J, Mishevskva CB, Van Meerbeek B. Bonding effectiveness of luting composites to different CAD/CAM materials. *J Adhes Dent* 2016; 18: 289-302.
- 9) Tribst J, Anami LC, Özcan M, Bottino MA, Melo RM, Saavedra G. Self-etching primers vs acid conditioning: impact on bond strength between ceramics and resin cement. *Oper Dent* 2018; 43: 372-379.
- 10) Murillo-Gómez F, De Goes MF. Bonding effectiveness of tooth-colored materials to resin cement provided by self-etching silane primer after short- and long-term storage. *J Prosthet Dent* 2019; 121: 713.e1-713.e8.
- 11) Miotti LL, Follak AC, Montagner AF, Pozzobon RT, da Silveira BL, Susin AH. Is conventional resin cement adhesive performance to dentin better than self-adhesive? A systematic review and meta-analysis of laboratory studies. *Oper Dent* 2020; doi.10.2341/19-153-L. (in press)
- 12) 黒川弘康, 白玉康司, 柴崎 翔, 秋葉俊介, 今井亜理紗, 須田駿一, 矢吹千晶, 鈴木敏裕, 宮崎真至. ユニバーサルアドヒーズ応用型レジンセメントの初期接着挙動. *日歯保存誌* 2016; 59: 333-342.
- 13) Araoka D, Hosaka K, Nakajima M, Foxton R, Thanatvarakorn O, Prasansuttiporn T, Chiba A, Sato K, Takahashi M, Otsuki M, Tagami J. The strategies used for curing universal adhesives affect the micro-bond strength of resin cement used to lute indirect resin composites to human dentin. *Dent Mater J* 2018; 37: 506-514.
- 14) Cheetham JJ, Palamara JE, Tyas MJ, Burrow MF. A comparison of the micro-shear bond strength and failure mode of non-enclosed and mold-enclosed luting cements bonded to metal. *Dent Mater J* 2013; 32: 896-905.
- 15) Moda MD, Fagundes TC, Briso ALF, Dos Santos PH. Analysis of the bond interface between self-adhesive resin cement to eroded dentin in vitro. *PLoS One* 2018; 13: e0208024.
- 16) Shafiei F, Fattah Z, Barati S. Effect of operator skill on the dentin bonding ability of a self-adhesive resin cement after different adhesive treatments. *Gen Dent* 2019; 67: e1-e16.

- 17) Van Landuyt KL, Cardoso MV, De Munck J, Peumans M, Mine A, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Optimization of the concentration of photo-initiator in a one-step self-etch adhesive. *Dent Mater* 2009; 25: 982-988.
- 18) Nojiri K, Tsujimoto A, Suzuki T, Shibasaki S, Matsuyoshi S, Takamizawa T, Miyazaki M. Influence of light intensity on surface-free energy and dentin bond strength of single-step self-etch adhesives. *Dent Mater J* 2015; 34: 611-617.
- 19) Hirai K, Tsujimoto A, Nojiri K, Ueta H, Takamizawa T, Barkmeier WW, Latta MA, Miyazaki M. Influence of photoirradiation conditions on dentin bond durability and interfacial characteristics of universal adhesives. *Dent Mater J* 2017; 36: 747-754.
- 20) Endo T, Finger WJ, Hoffmann M, Kanehira M, Komatsu M. The role of oxygen inhibition of a self-etch adhesive on self-cure resin composite bonding. *Am J Dent* 2007; 20: 157-160.
- 21) Lodovici E, Reis A, Geraldini S, Ferracane JL, Ballester RY, Rodrigues Filho LE. Does adhesive thickness affect resin-dentin bond strength after thermal/load cycling?. *Oper Dent* 2009; 34: 58-64.
- 22) Wakasa K, Yamaki M, Matsui A. Calculation models for average stress and plastic deformation zone size of bonding area in dentine bonding systems. *Dent Mater J* 1995; 14: 152-165.
- 23) Ritter AV, Sulaiman TA, Rodgers BM, Baratto-Filho F, Cunha L, Gonzaga CC, Correr GM. Effect of surface treatment and cement type on dentin bonding of processed resin composite. *Am J Dent* 2019; 32: 271-275.
- 24) Meda EM, Rached RN, Ignácio SA, Fornazari IA, Souza EM. Effect of different adhesive strategies and time on microtensile bond strength of a CAD/CAM composite to dentin. *Oper Dent* 2019; 44: 262-272.

## Influence of Light Irradiation of Universal Adhesives on the Bonding Effectiveness of Self-adhesive Resin Cements

ISHII Ryo<sup>1,2</sup>, TAKAMIZAWA Toshiki<sup>1,2</sup>, NOJIRI Kie<sup>1</sup>,  
TSUJIMOTO Akimasa<sup>1,2</sup>, AMARI Yoshiyuki<sup>1</sup>, OKUWAKI Taketo<sup>1</sup>,  
IJIMA Tatsuya<sup>1</sup> and MIYAZAKI Masashi<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Department of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry

<sup>2</sup>Division of Biomaterials Science, Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry

### Abstract

**Purpose:** The purpose of this study was to investigate the influence of light irradiation of universal adhesives on the bonding performance of self-adhesive resin cements based on shear bond strength (SBS) tests and SEM observations of resin/dentin interfaces.

**Materials and Methods:** Three combinations of universal adhesive and self-adhesive resin cement were used: OptiBond Universal/Maxcem Elite Chroma, G-Premio Bond/G-CEM LinkAce, and Scotchbond Universal/RelyX Unicem 2 Automix. Bovine enamel and dentin surfaces were ground with SiC papers, ending at #320 grit. Each universal adhesive was applied to the ground surface in self-etch mode according to the manufacturers' indications. The treated specimens were divided into two groups, with or without light irradiation of the adhesive applied surface. A stainless-steel metal ring was placed over the bonding area, and the self-adhesive cement was condensed into the ring and light irradiated. Ten specimens per each group were stored in 37°C water for 24 h, and then SBS tests were conducted. Two-way ANOVA followed by Tukey's honestly significant difference test ( $\alpha = 0.05$ ) was used for analysis of the SBS data.

**Results:** Although SBS value was material dependent for both enamel and dentin, the light irradiation groups tended to show higher SBS values than the non-irradiated groups. In the SEM observations, the adhesive layers with light irradiation were thicker than those without.

**Conclusion:** The results of this study indicated that appropriate light irradiation of universal adhesives may increase the bond performance of self-adhesive resin cements.

**Keywords:** self-adhesive resin cement, universal adhesive, light irradiation, bond strength, SEM observation

## タタキ振動を付与した音波振動歯ブラシのプラーク除去効果および 歯周組織に対する有用性について

鴨 井 久 博 吉 峰 正 彌  
三 浦 悠\* 濱 田 真理子\*

日本医科大学千葉北総病院歯科

\*エイチ・エムズコレクション

### 抄録

目的：口腔内疾患の発症や予防のために、日々のブラッシングによるプラーク・コントロールはとても重要である。効果的なプラーク・コントロールにおいて、音波振動歯ブラシは有効であることが示されている。そこで今回、新たに音波振動歯ブラシを用いて、プラーク除去効果について多角的に有用性を評価する。

対象および方法：被験者は、口腔清掃に関しての十分な知識をもち、かつ技能に関しても十分習熟していると考えられる男女年齢不問の12名とした。被験歯は、Ramfjord 6歯（16, 21, 24, 36, 41, 44または代替歯）でプラーク蓄積に著しく影響を及ぼす修復物がないものとした。使用器具は、新駆動方式の音波振動歯ブラシ Doltz (EW-DP51/Panasonic, 以下、新ドルツ)、従来駆動方式の音波振動歯ブラシ Doltz (EW-DE25/Panasonic, 以下、従来ドルツ) を使用した。研究方法は、初めに口腔内のプラーク除去を評価するために、プラークの点数化は Rustogi Modification Navy Plaque Index を用いて、使用前後の測定を行った。統計処理としては Wilcoxon 検定を用いた。次に歯周組織の状態を評価するために、評価項目は Probing Depth (PD), Bleeding on Probing (BOP), Gingival Index (GI) を用いて、使用前後の測定を行った。統計処理としては Wilcoxon 検定を用いた。

結果・考察：プラーク除去率は、全部位において従来ドルツ群が新ドルツ群と比較して各部位で高い除去率を示したが、両群には統計学的有意差は認めなかった。歯周組織の状態の評価は、PD, BOP, GI の全パラメータにおいて、従来ドルツ群よりも新ドルツ群のほうが高い改善率を示した。また、群内比較においても新ドルツ群は全パラメータで使用前後の有意差を認めた ( $p < 0.05$ )。

以上の所見から、新ドルツは従来ドルツと比較して、歯周組織改善効果が高いことが示された。新ドルツ本体に新たに付加されたタタキ振幅により歯肉に適度な刺激が伝わることと、口腔清掃に最適なマルチフィットブラシとの相乗効果が歯肉の改善に寄与したためと考えられる。今後、音波振動歯ブラシの使用により、う蝕・歯周病予防のプラーク・コントロールを行うことが期待できる。

キーワード：Rustogi Modification Navy Plaque Index, タタキ振幅, 歯肉の改善

責任著者連絡先：鴨井久博

〒270-1694 千葉県印西市鎌苅1715 日本医科大学千葉北総病院歯科

TEL: 0476-99-1111, FAX: 0476-99-1919, E-mail: hisakamo@nms.ac.jp

受付：2020年9月9日/受理：2020年11月9日

DOI: 10.11471/shikahozon.63.545

## 緒言

日々のプラーク・コントロールは、歯周病の予防や治療を行ううえで最も重要である<sup>1)</sup>。プラーク・コントロールには、化学的な方法と機械的な方法があるが、日常におけるプラーク・コントロールは主に歯ブラシを用いた機械的プラーク・コントロールである。特に、セルフケアとして行う日常のブラッシングは非常に重要である<sup>2)</sup>。

ブラッシングには、手用歯ブラシが用いられることが多く、歯肉縁上プラークの除去は可能であるものの、歯肉縁下のプラーク・コントロールは歯肉縁下1~2 mmまでが限界である。そこでプラーク・コントロールをさらに向上させるため、近年では電動歯ブラシ、特に音波振動歯ブラシが普及してきている。音波振動歯ブラシは1990年代に開発され、2000年頃から急速に普及してきた経緯がある。また、歯周病の全身への影響などが報告され<sup>3)</sup>、口腔清掃への意識の高まりによりさまざまな音波振動歯ブラシが開発されてきている。

この音波振動歯ブラシの普及に伴い、現在まで音波振動歯ブラシと手用歯ブラシとの比較検討が行われてきているが、音波振動歯ブラシは手用歯ブラシと比較して、プラークが効率よく除去できるという報告が種々されており<sup>4-7)</sup>、その有用性が示唆されている。これまでわれわれは、音波振動歯ブラシ Doltz にマルチフィットブラシを装着した際のブラッシングの有用性および安全性を立証してきたが、今回、歯の清掃により有効なブラッシングを実現するために、従来の横磨ぎ駆動に加えてタタキ方向の駆動を備えた新しい Doltz が開発された。そこで本研究では、マルチフィットブラシを用いて新たに開発された Doltz と従来型の Doltz のプラーク除去効果および安全性を比較評価した。さらに、臨床パラメーターの改善についても比較検討を加えた。

## 対象および方法

### 1. 被験者および被験歯

被験者は、口腔清掃に関しての十分な知識をもち、かつ技能に関しても十分習熟していると考えられる男女年齢不問の12名とし、2群に振り分けた。喫煙習慣がある者、全身疾患を有する者、抗生物質を服用している者、矯正治療中の者、妊娠中および産後1カ月以内の者、歯科医療従事者、現在歯科医院に通院している者は、対象から除外した。

対象歯は、Ramfjord 6 歯 (16, 21, 24, 36, 41, 44) とし、プラーク蓄積に著しく影響を及ぼす修復物がない

ものとした。対象歯に Probing depth (PD) が2~6 mm 程度で Bleeding on Probing (BOP) を伴う箇所を有していること、3カ月以上歯科医院に通院していない者、被験歯が天然歯であることを対象条件とした。被験歯が処置歯の場合は、歯冠を覆っていないインレー・複合レジンなどであれば対象歯とした。さらに、インレー・複合レジン以外の修復物または欠損歯の場合は隣接代替歯で対応し、隣接代替歯で対応不可の場合は対象歯を左右反転させ対応した。

本研究は倫理的観点からインフォームドコンセントを実施した。すなわち研究計画を口頭および文書で被験者に説明し、参加被験者全員より研究参加の同意を書面で得た。なお本研究は、パナソニック株式会社アプライアンス社研究倫理審査委員会の承認を得ている (承認番号: 20161221-A01)。

### 2. 使用歯ブラシと歯磨剤

使用した音波振動歯ブラシは、振動数 31,000 ブラシストローク/分を有し、横磨ぎ振幅 1.1 mm で動作する Doltz (EW-DE25/Panasonic, 以下、従来ドルツ, Fig. 1) と、新たに開発された振動数 12,000 ブラシストローク/分と振幅 0.5 mm のタタキの動作を従来ドルツに追加した新 Doltz (EW-DP51/Panasonic, 以下、新ドルツ, Fig. 2) とした。ブラシヘッドはマルチフィットブラシ (EW0915/Panasonic, Fig. 3) とした。また歯ブラシ使用時に用いる歯磨剤は、パックスジェルはみがき (太陽油脂) とした。研磨剤・発泡剤・薬用成分の配合はなく、電動歯ブラシとの併用が可能となっている。

### 3. 研究方法

#### 1) マルチフィットブラシによるプラーク除去率および安全性の検証

予備診査として、モニター募集した者に歯式診査、被験歯の染め出し後、歯科衛生士によるスクリーニングを行った。このスクリーニングにより、被験者 12 名を選出した。被験者 12 名を 6 名ずつ 2 グループに分け、新ドルツ本体にマルチフィットブラシを装着し使用する群、従来ドルツ本体にマルチフィットブラシを装着し使用する群の 2 群をクロスオーバー試験により評価した。

被験者の研究開始前の状態記録のため、試験開始前の創傷の有無確認、正面観の口腔内の写真撮影を行った。これらの診査終了後、被験器具を渡し使用法および禁止事項の説明、また歯ブラシの使用記録表への記入の指導を行った。試験期間は約 2 週間とし、被験者は割り当てられた被験器具を毎日使用した。なお被験者にはプラーク除去率測定のため、診査の前夜からブラッシングを中止させ、プラークが付着した状態で来院させた。2 週間後、創傷有無の確認、プラーク除去率測定を行った。創傷有無の確認は目視による歯肉創傷有無とした。



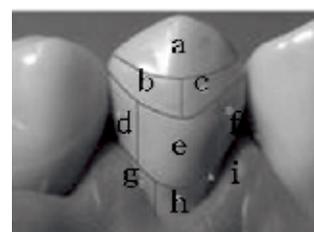
**Fig. 1** Doltz  
(Conventional type)



**Fig. 2** Doltz  
(New type)



**Fig. 3** Multifit brush



**Fig. 4** Rustogi Modification Navy Plaque Index (RMNPI)  
a, b, c, e: smooth surface area, d, f: interproximal area, g, h, i: cervical area

プラーク除去率の測定に関しては、被験歯を染め出して被験器具の使用前のプラーク付着状態を記録した。その後、新品のマルチフィットブラシとドルツ本体を用い、各規定の磨き方で被験者自身にブラッシングさせた。再び染め出しを行い、測定・口腔内撮影を再度行った。その後、歯肉創傷の診査を明確に行うため、1週間の研究で用いる歯ブラシを使用しない期間を設けた。なお被験者はその期間、普段どおりのケアを行うよう指示した。3週間以降は、研究開始から2週間後までと同様の内容を繰り返して行い、5週間後に同様の診査を行った。

歯ブラシの使用条件は、朝・夕2回のブラッシング2分間とした。歯磨剤使用は約パール1粒大とし、歯ブラシ使用時のみの使用を指示した。試験期間中は、試験器具以外の歯ブラシと歯磨剤の使用、補助用具の使用、洗口剤・デンタルリンスの使用、ガム・タブレットの摂取、抗生物質の服用などを禁止とした。

付着プラークの評価方法はNavy法とし<sup>8)</sup>、プラークの点数化はRustogi Modification Navy Plaque Index (RMNPI)を用いた (Fig. 4)。各1歯面の9分画についてプラークの付着の有無を判定し、1および0として点数化した。なお、1歯面につき頬側・舌側を計測した。記録は、口腔内用ビデオカメラ、デンタルアイ (パナソニックデンタル)を用いて撮影した。

歯肉創傷は目視診察により確認した。歯ブラシ使用前後の歯肉創傷の有無はカルテへ記録し、歯肉創傷を認めた場合は、静止画で撮影してカルテへ部位を記録した。

また新ドルツ群・従来ドルツ群ともに、満足度、隔々

まで磨けたか、歯磨き後の口の中の爽快感、継続して使用したいか、の4項目についての官能評価を行った。5点:満足/思う, 4点:やや満足/やや思う, 3点:どちらともいえない, 2点:やや不満足/あまり思わない, 1点:不満足/思わない, の5段階で点数化後評価した。

#### 2) マルチフィットブラシによる歯肉改善および安全性検証

予備診査として、モニター募集した者に歯式診査、被験歯のPD・BOP・GIの測定を行った。測定を阻害する歯肉縁上歯石を認めた場合は、その歯のみ歯石除去を行った。スクリーニングにより、被験者12名を選出した。被験者に対して、歯ブラシ使用前の歯周組織検査、創傷有無の確認、被験器具の使用法の提示を行った。

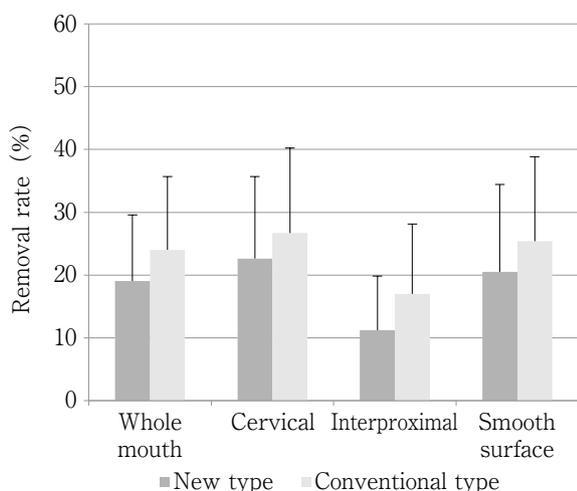
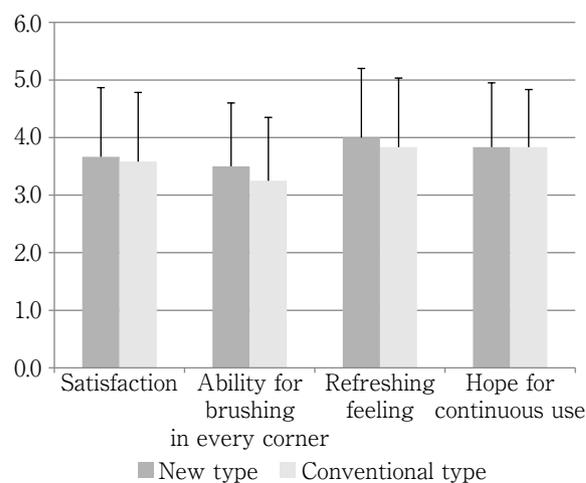
被験者の試験開始前の状態記録のために、試験開始前の創傷の有無確認、正面観の写真撮影、ならびにPD・BOP・GIの測定を行った。診査後、被験器具を渡し使用法および禁止事項の説明、使用記録表への記入の指導を行った。なお、試験期間は1週間とし、被験者は割り当てられた被験器具を毎日使用するよう指示した。使用1週間後に来院させて、歯周組織検査、創傷有無の確認を行うとともに、目視による歯肉創傷有無の確認とPD・BOP・GIを測定した。その後、歯肉創傷の診査を明確に行うため、1週間のウォッシュアウト期間を設け、その

**Table 1** Plaque removal rate by Multifit brush in two groups (%)

	Whole mouth	Cervical	Interproximal	Smooth surface
New type	19.0±10.5	22.7±12.9	11.2±8.6	20.4±13.9
Conventional type	23.9±11.7	26.7±13.4	16.9±11.2	25.4±13.3

**Table 2** Results of sensory evaluation

	Satisfaction	Ability for brushing in every corner	Refreshing feeling	Hope for continuous use
New type	3.7±1.2	3.5±1.1	4.0±1.2	3.8±1.2
Conventional type	3.6±1.2	3.3±1.1	3.8±1.2	3.8±1.0

**Fig. 5** Plaque removal rate by Multifit brush**Fig. 6** Results of sensory evaluation

間被験者は普段どおりのケアを行うよう指示した。2週間以降は、研究開始から1週間後までと同様の内容を繰り返して行い、3週間後に同様の診査を行った。歯ブラシの使用条件は、プラーク除去率および安全性の検証時と同条件とした。

なお本研究の臨床試験の実施期間は、2017年5月13日～7月2日とした。

#### 4. 統計解析

各群の比較はクロスオーバーデザインのため、統計処理としてはWilcoxon検定を用いた。危険率5%で有意差あり、10%で差が有意である傾向を示すと判断した。

## 結 果

### 1. マルチフィットブラシによるプラーク除去率および安全性検証

#### 1) 歯ブラシ使用後の創傷について

視診による検査の結果、被験器具使用後に新たに認め

られた傷はなかった。

#### 2) プラーク除去率の変化について

プラーク除去率の計測値をTable 1およびFig. 5に示した。(術前のプラークスコア/術後のプラークスコア)/(術前のプラークスコア)×100(%)で除去率を算出した。

全部位において、従来ドルツ群が新ドルツ群と比較して高い除去率を示したが、両群には統計学的有意差は認められなかった。

#### 3) 官能評価について

新ドルツ群・従来ドルツ群ともに、下記項目について官能評価を行った。官能評価の結果を、Table 2およびFig. 6に示した。各項目で両群とも同等に高い評価となった。

### 2. マルチフィットブラシによる歯肉改善および安全性検証

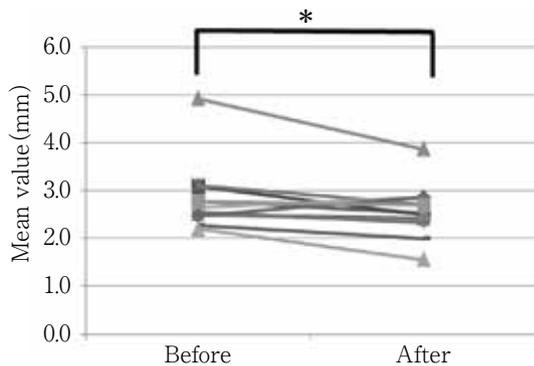
#### 1) 歯ブラシ使用後の創傷について

視診による検査の結果、安全上問題となる傷は認めな

**Table 3** Measured values of three clinical parameters

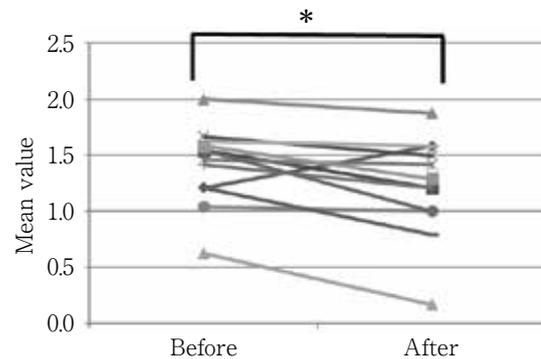
	PD (mm)		BOP (%)		GI	
	Before	After	Before	After	Before	After
New type	2.82±0.72	2.56*±0.55	48.1±25.1	36.8*±23.4	1.41±0.35	1.22*±0.45
Conventional type	2.82±0.53	2.59*±0.54	53.7±21.0	42.8±23.4	1.47±0.30	1.33±0.32

\* : p<0.05



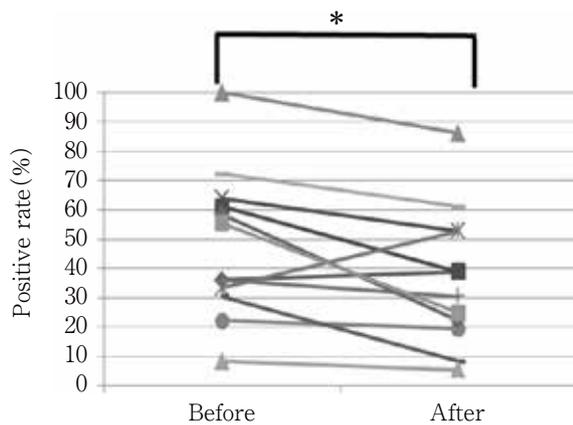
**Fig. 7** Change of mean value (PD) by New type Doltz

\* : p<0.05



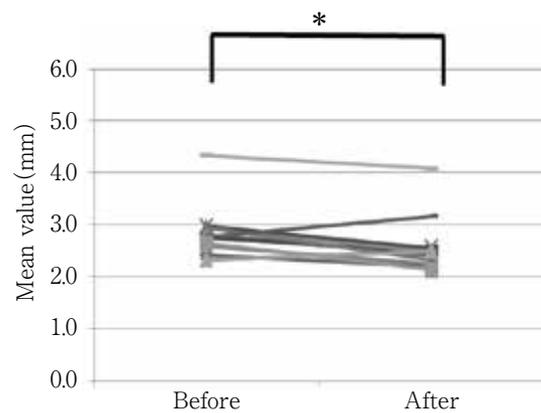
**Fig. 9** Change of mean value (GI) by New type Doltz

\* : p<0.05



**Fig. 8** Change of BOP by New type Doltz

\* : p<0.05



**Fig. 10** Change of mean value (PD) by Conventional type Doltz

\* : p<0.05

かった。被験器具使用後に新たには擦過傷が新ドルツ群において1症例、従来ドルツ群において2症例認められたが被験者に自覚症状はなく、ごく微細なものであった。

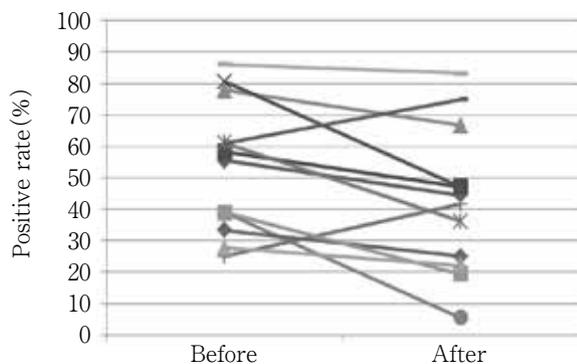
2) PD・BOP・GIの計測値の変化

群内比較について新ドルツ群と従来ドルツ群それぞれの臨床パラメーターの計測値を Table 3 および Fig. 7~12 に示した。新ドルツ群内比較において PD (p=0.041), BOP (p=0.022), GI (p=0.018) で有意差を認めた。また、従来ドルツ群内比較では PD (p=0.025) において有意差を認めた (p<0.05)。

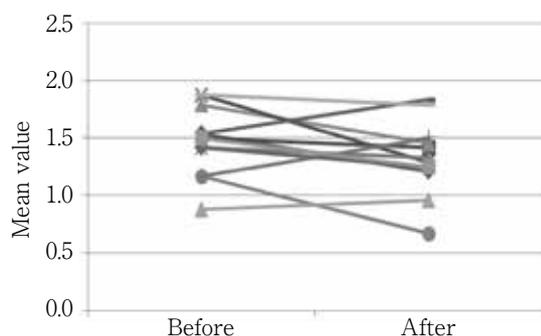
群間比較について、新ドルツ群と従来ドルツ群の臨床パラメーターの改善率を Table 4 および Fig. 13 に示した。両群の比較では PD・BOP・GI において統計的有意差は認められなかったものの、新ドルツ群で高い改善率を示した。

考 察

従来ドルツ群、新ドルツ群ともにマルチフィットブラシを装着して使用後、視診により問題となるような歯肉



**Fig. 11** Change of BOP by Conventional type Doltz



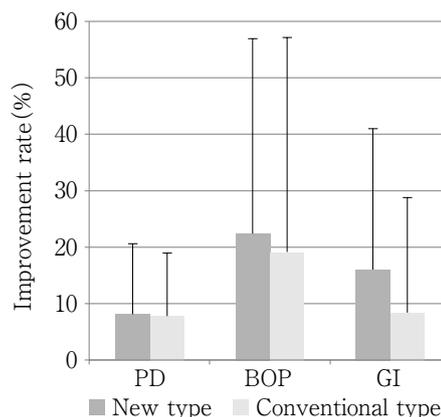
**Fig. 12** Change of mean value (GI) by Conventional type Doltz

への大きな創傷は認められなかった。このことから、両群へのマルチフィットブラシの装着、使用における安全性に問題はなかったと考えられた。

プラーク除去率は、全部位において従来ドルツ群が新ドルツ群と比較して高い除去率を示したものの、統計学的有意差は認めなかった。このことから、プラーク除去に関しては、横磨き振幅のみの従来ドルツにおいて十分に行われていた可能性もあるものの、本研究におけるプラーク除去率は2群ともに20%台であり低い値を示した。本来、音波振動歯ブラシの習熟期間を考慮して、研究期間を5カ月に設定している報告<sup>7)</sup>もあることや、また音波振動歯ブラシ・電動歯ブラシの使用に関する慣れの期間はプラーク除去率に影響を及ぼす<sup>9)</sup>といわれていることから、本研究における2週間の研究期間では音波振動歯ブラシの使用に十分に慣れることが困難であったことが予想され、このことがプラーク除去率の低さにつながったものと思われる。研究期間をより長く設定することにより、新ドルツ群への慣れが生じた結果として、新たに搭載された12,000ブラシストローク/分のタタキ磨きの効果が高いプラーク除去率につながるかもしれない。また過去の電動歯ブラシの研究報告の多くが刷牙時間を3分間に設定しているなかで、本研究におけるブ

**Table 4** Improvement rate of three clinical parameters (%)

	PD	BOP	GI
New type	8.2±12.3	22.3±34.4	16.0±25.0
Conventional type	7.8±11.3	19.2±37.9	8.5±20.3



**Fig. 13** Improvement rate of three clinical parameters in two groups

ラッシング時間は2分間であった。音波振動歯ブラシの、手用歯ブラシよりも高いプラーク除去効果を考慮してもブラッシング時間は2分間よりも長くする必要があるとの報告<sup>5)</sup>もあることから、ブラッシング時間を長く設定することで新ドルツ使用時における高いプラーク除去率につながる可能性がある。また本研究では、付着プラークの評価方法はNavy法としRMNPIを用いた。RMNPIは、隣接面および歯頸部のプラーク付着状態をより詳細に把握するために開発された指標である<sup>8)</sup>。実際にRMNPIをプラーク付着の指標として用いることにより、口腔内全体のみならず、う蝕・歯周疾患に最も関連性があると考えられる歯頸部・隣接面のプラーク除去効果率が示され、使用した歯ブラシのプラーク除去効果が、歯頸部・隣接面の部位別に詳細に観察できる利点がある。本研究においても、プラーク除去率は、口腔内全体・歯頸部・隣接面・平滑面の4部位にて算出しており、それらを比較すると、特に従来ドルツ群・新ドルツ群ともに歯頸部において高い値を示す傾向が認められた。これは、両群において音波振動効果が働くことにより、プラーク除去効果が高いとされるスクラビング法<sup>10)</sup>と同様の動きが歯面に対して行われ、結果として歯頸部に対してのプラーク除去効果を発揮したものと推察される。

マルチフィットブラシの官能評価において、両群ともに高い値を示し、特に新ドルツ群では、従来ドルツ群よりも高い評価を示した。すなわち、満足度、隅々まで磨けた感じがある、ブラッシング後の爽快感、また継続し

て使用したいとの評価であった。これらの使用感は、実際のプラーク除去率と必ずしも一致するとは限らないが、特に、歯ブラシを継続して使用するためのモチベーションの向上などにつながる可能性がある<sup>11)</sup>。

音波振動歯ブラシを使用したことにより、音波振動による歯肉へのマッサージ効果が得られ、結果としてPD・Gingival Bleeding Index・GIの臨床パラメーターが改善したとの報告<sup>12)</sup>やPD・BOP・GIが改善したとの報告<sup>13)</sup>がなされているが、本研究においてもこれらの報告と同様の傾向を示した。臨床パラメーターにおいては、PD・BOP・GIの全パラメーターで、従来ドルツ群よりも新ドルツ群のほうが高い改善率を示した。さらに、2群間のプラーク除去率に関して有意差が認められていないにもかかわらず、新ドルツ群のみで全パラメーターで使用前後の有意差を認めていた。このことから、新ドルツ群におけるタタキ方向の微小振動に伴う歯肉への物理的なマッサージが効果的に作用して歯肉における炎症状態を改善させた結果、臨床パラメーターの改善が起こった可能性がある。

新ドルツでは、31,000 ブラシストローク/分の横磨き振動に加えて、歯間部にアプローチする12,000 ブラシストローク/分のタタキ振動が加えられており、従来ドルツ群と比較してより多方向に振動が起こることにより、歯肉への効果的なマッサージが行われたものと推察される。歯間部の形態は複雑であり、清掃あるいは歯間部歯肉へのマッサージには、手用の歯間ブラシなどを一方向に往復させるなどの単純な動きでは不十分であり、歯間部の形態に合わせて多方向に動かす必要がある<sup>14)</sup>。その点において、新ドルツ群に付与されたタタキ振動は、縦方向の振動を有し歯間部の形態に立体的にフィットすることによりアプローチが可能になったものと推察される。その結果、歯間部歯肉のマッサージが効果的に行われたことで歯肉の状態が改善され、歯肉の状態に関する3種類の臨床パラメーター、すなわちPD・BOP・GIが、新ドルツ使用前後で有意に改善されたと考えられる。歯肉マッサージは歯周組織の炎症改善に影響するという報告があることから<sup>15)</sup>、歯肉への適度な刺激により血液循環の改善などが起こった可能性があり、その結果として臨床パラメーターが改善したものと考えられる。すなわち、まずマッサージ効果により表在性の炎症が消退することでGIの改善が起こり、ポケット内部の炎症所見であるBOPが続いて改善し最終的にPDの改善につながったと推察される。さらに、音波振動歯ブラシでは、音波振動が液体中を伝達して空気の泡を発生させる液体流動力により毛先が直接触れていない部分のプラークを除去することが可能であるといわれている<sup>16,17)</sup>。また、音波振動により細菌の構造破壊を起こすことも報告されてい

る<sup>18)</sup>。これらのことから、音波歯ブラシのキャビテーション効果によりバイオフィルムの歯面への付着力の減弱、および歯周ポケット内細菌の構造破壊などが惹起されて、結果として歯周ポケット内の歯周病原性細菌の減少により歯肉における炎症の消退につながった可能性も考えられる。

## 結 論

新ドルツは、従来ドルツと比較して、歯周組織改善効果が高いことが示され、今後、う蝕・歯周病予防のプラーク・コントロールに対しての効果が期待できる。

本論文に関して、開示すべき利益相反状態はない。

## 文 献

- 鈴木史彦, 山口貴司, 小野瀬 規, 依田圭吾, 河本和繁, 関野 倫, 岡本 浩. 歯周基本治療においてプラークコントロール期間が歯周組織の改善に及ぼす影響. 日歯周誌 1999; 41: 330-337.
- 松澤澄江. モチベーションをするために. 日歯周誌 2010; 52: 434-437.
- 村山洋二, 西村英紀, 岩本義博, 高柴正悟. 歯周病と全身疾患. 日歯周誌 2003; 45: 325-348.
- 深谷千絵, 穂坂康朗, 中川種昭. 音波歯ブラシと超音波歯ブラシのプラーク除去効果. 日歯保存誌 2005; 48: 481-487.
- 穂坂康朗, 深谷千絵, 永井美和, 両角祐子, 佐藤 聡, 中川種昭. 音波歯ブラシ (sonicare® elite) のプラーク除去効果—ヘッドの大きさの違いによる比較—. 日歯保存誌 2007; 50: 440-446.
- Johnson BD, McInnes C. Clinical evaluation of the efficacy and safety of a new sonic toothbrush. J Periodontol 1994; 65: 692-697.
- 鈴木崇夫, 望月 悟, 山本祥子, 宮下 元, 山本松男. 音波歯ブラシのプラーク除去効果について. 日歯周誌 2007; 49: 120-129.
- Rustogi KN, Curtis JP, Volpe AR, Kemp JH, McCool JJ, Korn LR. Refinement of the Modified Navy Plaque Index to increase plaque scoring efficiency at the gum line and interproximal tooth areas. J Clin Dent 1992; 3: C9-12.
- 渡辺一郎, 野村典生, 橋 文昭, 鈴木丈一郎, 五味一博, 新井 高. 音波歯ブラシのプラーク除去効果. 日歯保存誌 2005; 48: 40-47.
- 新井 高. 歯ブラシとブラッシング方法の相違による歯垢除去についての比較. 日歯周誌 1976; 18: 13-31.
- 中山亮平, 太田淳也, 両角祐子, 深谷千絵, 笠井俊輔, 植野琢也, 高塩智子, 佐藤 聡, 中川種昭. 音波振動式

- 電動歯ブラシのプラーク除去効果. 日歯周誌 2013;55:140-147.
- 12) 八島章博, 鈴木丈一郎, 田村紗恵子, 松島友二, 五味一博, 新井 高. 音波歯ブラシの臨床的および細菌学的パイロット研究. 日歯周誌 2015;57:159-167.
  - 13) 白川 哲, 氏家優子, 横山拓哉, 中山佑平, 早田優樹, 丹羽亮彦, 船津太一郎, 荒井千明, 長野孝俊, 五味一博. 音波歯ブラシ (Sonicare® FlexCare Platinum) のプラーク除去, 臨床パラメーターならびに歯周ポケット内細菌に与える効果. 日歯周誌 2016;58:107-116.
  - 14) 高世尚子, 田淵由美子, 鶴川直希, 武村あかね. 歯間清掃器具によるプラーク除去効果の臨床的検討. 日歯保存誌 2005;48:272-277.
  - 15) 渡辺一郎. サル実験的歯肉炎に対するブラッシング, 歯肉マッサージ, プラーク除去効果の比較. 日歯保存誌 2001;44:492-505.
  - 16) 八島章博, 鈴木 磨, 松島友二, 五味一博. 水流洗浄器と音波歯ブラシ併用が歯周ポケット内細菌へ与える影響. 日歯周誌 2015;58:314-320.
  - 17) Stanford CM, Srikantha R, Wu CD. Efficacy of the Sonicare toothbrush fluid dynamic action on removal of human supragingival plaque. J Clin Dent 1997; 8: 10-14.
  - 18) MacNeill S, Walters DM, Dey A, Glaros AG, Cobb CM. Sonic and mechanical toothbrush. An in vitro study showing altered microbial surface structures but lack of effect on viability. J Clin Periodontol 1998; 25: 988-993.

## The Efficacy of Dental Plaque Removal and Usefulness for Periodontal Tissue of a Sonic Toothbrush Equipped with Tapping Amplitude

KAMOI Hisahiro, YOSHIMINE Masaya,  
MIURA Haruka\* and HAMADA Mariko\*

Dental Clinic, Nippon Medical School Chiba Hokusoh Hospital

\*H・M's collection

### Abstract

**Objective:** Plaque control by daily brushing is important to prevent oral diseases. The usefulness of electric toothbrushes for effective plaque control has been demonstrated. In this study, the usefulness of a new electric toothbrush for removing plaque was evaluated from multiple aspects.

**Subjects and Method:** The subjects were males and females, regardless of age, who had knowledge of and were able to perform the oral cleaning method, and met the study conditions. For the test teeth, 6 Ramfjord teeth (16, 21, 24, 36, 41, and 44 or alternative teeth) without restoration with marked plaque accumulation were used. For the tool, two types of sonic toothbrush, the new Doltz and the conventional Doltz (Panasonic), were used. First, to evaluate oral plaque removal, plaque was scored using the Rustogi Modification Navy Plaque Index before and after use of the sonic toothbrush. For statistical analysis, the Wilcoxon test was used. Then, to evaluate oral cleaning, the following evaluation items were measured before and after use of the toothbrush: probing depth (PD), bleeding on probing (BOP), and gingival index (GI). For statistical analysis, the Wilcoxon test was used.

**Results and Discussion:** The plaque removal rate was higher in the conventional Doltz group than in the new Doltz group in all regions, but the differences between the two groups were not significant. On evaluation of periodontal pocket cleaning, the improvement rates of all parameters (PD, BOP, and GI) were higher in the new Doltz group than in the conventional Doltz group. In addition, significant differences were noted after use in all parameters on intra-group comparison ( $p < 0.05$ ).

This study clarified that the new Doltz has greater improvement effects on periodontal tissue than the conventional Doltz; this may be due to the tapping amplitude newly added to the main unit of the new Doltz, which appropriately stimulates the gingiva, as well as the dense extra-fine toothbrush, which is optimal for periodontal pocket cleaning, exhibiting synergistic effects to improve the gingiva. Sonic toothbrushes are expected to be effective for plaque control to prevent caries and periodontal disease.

**Key words:** Rustogi Modification Navy Plaque Index, tapping amplitude, effects to improve the gingiva

## Influence of Light Irradiation Conditions on the Tensile Bond Strength of Resin Composite Bonding Materials to Dentin

OUCHI Satoko, IWATA Naohiro, LIU Haitao,  
XIE Zhouqiao, WANG Xiangyu, MOROTO Hidetoshi,  
ISHIDA Shunsuke, KOMASA Reiko, YASUO Kenzo,  
TANIMOTO Hiroaki, YOSHIKAWA Kazushi and YAMAMOTO Kazuyo

Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University

### Abstract

**Purpose:** The influence of irradiation conditions on tensile bond strength (TBS) was evaluated using Clearfil Mega Bond (MB, Kuraray Noritake Dental) and Clearfil Mega Bond 2 (MB2, Kuraray Noritake Dental) which contain a highly active photopolymerization catalyst.

**Methods:** The surface of human teeth was ground with wet SiC paper up to 600 grit to prepare the dentin surface. The prepared surface was then conditioned by applying primer of MB, followed by bonding agent of MB. The applied bonding agent was light-irradiated from approximately 2.0 mm, 7.0 mm and 12.0 mm above the adherend surface under the following conditions: 1. Using a halogen irradiation device (XL3000, 3M ESPE, USA) for 10 seconds, 2. Using a conventional LED light irradiation device (PenCure, Morita) for 10 seconds, and 3. Using a high-output LED light irradiation device (PenCure 2000, Morita) in high-power mode for 3 seconds. The resin composite was filled and cured by the XL3000. TBS was determined after 24-hour storage in water at 37°C (n=5).

**Results:** In the case of the irradiation distance of 2.0 mm, MB2 attained enough TBS under the conditions of high-output LED light irradiation by the PenCure 2000 in high-power mode for 3 seconds. However, when the irradiation distance was long, MB2 could not attain enough TBS with 3 seconds of irradiation and enough TBS was attained only when irradiating with the PenCure for 10 seconds.

**Conclusion:** Even if the irradiation distance of PenCure was long, MB2 attained enough TBS. In addition, it was possible to obtain sufficient TBS by conducting light irradiation for 10 seconds, even when the irradiation distance was longer.

**Key words:** bonding system, TBS, LED light-curing unit

## Introduction

In recent years, the bonding systems of composite resins (CRs) have dramatically advanced, including improved bond strength and reduced technical sensitivity with simplified steps. In addition, thanks to the concurrent improvements in mechanical properties and esthetics of CRs, they have been used for treating various cavities<sup>1-5</sup>). Moreover, the widespread popularization of the concept of minimal intervention<sup>6-8</sup>) among dentists has resulted in broader use of CRs to perform large repairs of molar parts and devitalized teeth after root canal treatment. As opportunities for CR repair increase, the light irradiation devices and bonding systems used in such repairs have rapidly advanced, with new products being released one after another. As light irradiation devices, devices that use blue light-emitting diodes (LEDs) as light sources have replaced the conventional halogen lamp types and have become the mainstream. Unlike halogen light, the light irradiated from these LED devices is in specific wavelength regions<sup>9</sup>), and the devices also consume less electricity and their light source has a longer lifespan compared to halogen irradiation devices<sup>10</sup>). They also offer advantages such as low heat generation and no need for filters to eliminate unnecessary wavelengths<sup>11-13</sup>). The insufficient light intensity of the early models has therefore been improved, and recent high-output LED light irradiation devices can polymerize bonding materials in a shorter irradiation time<sup>14,15</sup>). However, it has been reported that the bond strength deteriorated depending on the type of bonding material when the irradiation period was short, as polymerization was insufficient<sup>9</sup>). Clearfil Mega Bond 2 (MB2), which is currently available commercially, is a two-step self-etching bonding system which consists of two materials, namely the primer and the bonding agent, and it incorporates a phosphate ester-based monomer called MDP, which delivers a high bond durability<sup>16</sup>). It is also considered possible with this system to reduce the light irradiation period by using a high-output LED light irradiation device (1,500 mW/cm<sup>2</sup> or higher), as the photocuring properties are improved with the incorporation of a high-activity photopolymerization catalyst, which offers high absorption of light and an absorption wavelength region that includes the LED region, and so can gener-

ate a larger number of highly active radicals than the conventional photopolymerization catalysts.

In this study, the effects of different light sources and irradiation distances on the tensile bond strength (TBS) to dentin were compared and examined by using MB2 and Clearfil Mega Bond (MB), which is a conventional bonding system.

## Materials and Methods

This study was conducted with the approval of the ethics committee, Osaka Dental University (approval No.: Osaka Dental University Medical Ethics No. 110883). Table 1 lists the materials that were used in this study, and Table 2 the irradiation devices and irradiation conditions that were used.

### 1. Measurement of tensile bond strength (TBS)

Flat dentin surfaces were prepared by defrosting human premolars which had been stored in a freezer after removal immediately before use, removing the enamel on the labial side of the crown part by using a model trimmer while preserving the dental pulp, and then polishing the area up to #600 with waterproof abrasive paper. The bonding surface area was defined by fixing double-sided tape in which a hole with 3.0 mm inner diameter was formed, and a brass jig with 4.0 mm inner diameter at the top, 3.5 mm inner diameter at the bottom and 2.0 mm height was placed on top of it. MB or MB2 was applied on the dentin surface to be bonded, followed by primer treatment for 20 seconds, thorough drying by blowing air, thin application of bonding agent, and light irradiation under different conditions with irradiation distances of 2.0 mm, 7.0 mm, or 12.0 mm. The three irradiation conditions listed in Table 2 were used. After filling CR into the brass jig in bulk and pressure-welding it with a glass plate under pressure applied by the fingers via a polyester film, a halogen irradiation device (XL3000, 3M ESPE, USA) was used to irradiate light for 20 seconds to cure the material. The cured material was stored in water at 37°C for 24 hours before it was subjected to TBS measurement with a universal testing machine (IM-20, INTESCO) at a crosshead speed of 0.3 mm/min (n=5). As statistical processing, the significant difference authorization of groups (MB-XL3000, MB2-XL3000, MB-PenCure, MB2-PenCure, MB-PenCure 2000 and MB2-PenCure 2000) was held for every irradiation distance using one-

**Table 1** Materials used

	Materials	Code	Composition	Lot	Manufacturer
Bonding system	Clearfil Mega Bond	MB	Primer	000031	Kuraray Noritake Dental
			10-MDP, HEMA, Hydrophilic aliphatic dimethacrylates, dl-Camphorquinone, Water		
	Bond	10-MDP, HEMA, Bis-GMA, Hydrophobic aliphatic methacrylates, Colloidal silica, dl-Camphorquinone, Intitators, Accelerators, Water			
	Clearfil Mega Bond 2	MB2	10-MDP, HEMA, Bis-GMA, Hydrophobic aliphatic dimethacrylates, Colloidal silica, dl-Camphorquinone, New initiators, Accelerators	000035	
Composite resin	Clearfil AP-X (shade A3)	CR	Bis-GMA, TEGDMA, Photopolymerization catalyst, Filler, Colorant, Accelerators	920064	

**Table 2** Light-curing devices and conditions

Curing light device	Irradiation time	Manufacturer
PenCure	10 seconds	Morita
PenCure 2000	High power 3 seconds	
XL3000	10 seconds	3M ESPE (USA)

way analysis of variance and Tukey's post hoc test ( $p < 0.05$ ).

All samples were sputter-coated with gold after TBS measurement according to the normal method, and the tensile fracture surface of dentin was observed using a scanning electron microscope (JSM-5610LU, JEOL). The failure type was determined by classifying those with 70% or more interface exposure as adhesive failure, those with 70% or more adhesion of dentin or the cured material as cohesive failure, and others as mixed failure.

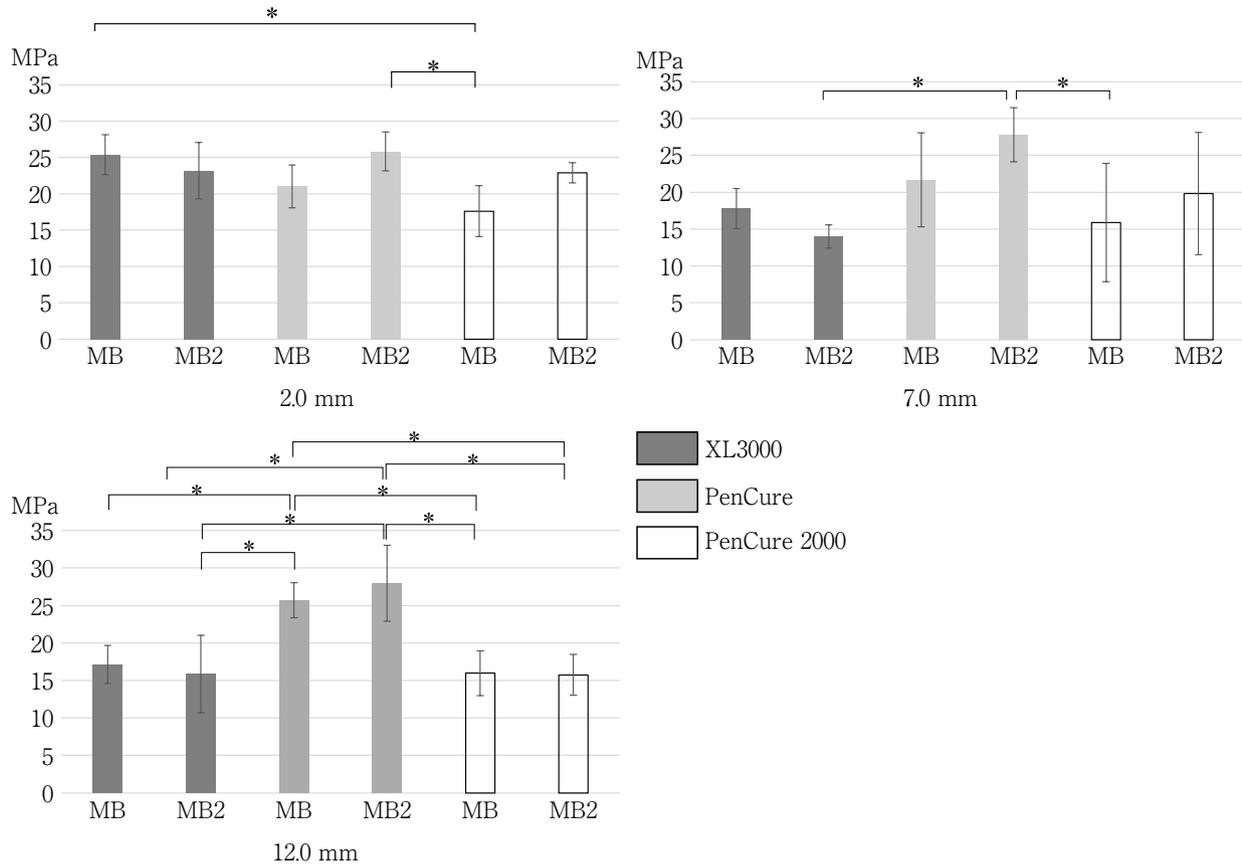
## 2. Measurement of light intensity

WSpec (B & W TEK, USA) was used to measure the quantity of light. Light intensity levels of PenCure, PenCure 2000 in high-power mode, and XL3000 were measured at distances from the measurement fiber of 2.0 mm, 7.0 mm, and 12.0 mm ( $n=5$ ). As statistical processing, the significant difference authorization between the irradiation distances was held for each container which was irradiated with light using one-way analysis of variance and Tukey's post hoc test ( $p < 0.05$ ).

## Results

### 1. Tensile bond strength (TBS)

Figure 1 shows the results of TBS measurements. As a result of one-way layout analysis of variance, the combination of bonding resin and irradiation device gave a significant difference in TBS (2.0 mm:  $F=5.24$ ,  $p < 0.01$ ; 7.0 mm:  $F=3.64$ ,  $p < 0.05$ ; 12.0 mm:  $F=11.50$ ,  $p < 0.01$ ). TBS did not show any significant difference between the PenCure samples and the XL3000 samples for MB2 ( $p > 0.05$ ) when PenCure 2000 in high-power mode was used to irradiate light for 3 seconds at the irradiation distance 2.0 mm, even though TBS decreased significantly for MB ( $p < 0.05$ ). It was found that a high TBS value could be obtained by irradiating light for 10 seconds using PenCure when the irradiation distance was longer, although TBS decreased for both MB and MB2 when XL3000 was used ( $p < 0.05$ ). Furthermore, the TBS value decreased significantly when the irradiation distance was 12.0 mm even for PenCure 2000 in high-power mode when the light irradiation period was 3 seconds ( $p < 0.05$ ).



**Fig. 1** Influence of irradiation on dentin tensile bond strength  
\* : p<0.05

Tables 3 to 5 and figure 2 show the results of tensile fracture surface observation. Adhesive failure images were not observed for MB2 even with longer irradiation distances, although it was observed for MB even at the irradiation distance of 2.0 mm when light was irradiated for 3 seconds with PenCure 2000 in high-power mode.

**2. Light intensity**

Figure 3 shows the measurement results. As a result of one-way layout analysis of variance, the significant difference was accepted for light intensity by difference in irradiation distance (PenCure: F=4853.04, p<0.01; PenCure 2000: F=519.70, p<0.01; XL3000: F=168.74, p<0.01). The light intensity decreased significantly with longer irradiation distance for all irradiation devices (p<0.05). Especially, when the irradiation distance was increased to 12.0 mm, the light intensity levels of both PenCure 2000 and XL3000 decreased to approximately half compared to the levels at the distance of 2.0 mm.

**Discussion**

LED irradiation devices offer advantages such as excellent operability even in the confined space of the oral cavity thanks to their cordless feature, light weight, small head part, stable light irradiation with no deterioration in light intensity during continuous irradiation, and less frequent need for charging thanks to low electricity consumption<sup>10)</sup>. The devices are thus used in various clinical settings as a replacement for conventional halogen light irradiation devices. In addition, they can produce parallel and uniform light irradiation when combined with an optical mirror and an aspherical lens inside the head, and are estimated to deliver a sufficient amount of light even at some distance from the irradiated part<sup>10)</sup>. However, deterioration in optical energy during light irradiation and unstable focus are highly likely to occur when irradiation is done in a deep cavity, such as a repair that includes the gingival wall of a class 2 cavity or a pulp cavity after root canal treat-

**Table 3** Failure mode analysis of irradiation distance 2.0 mm

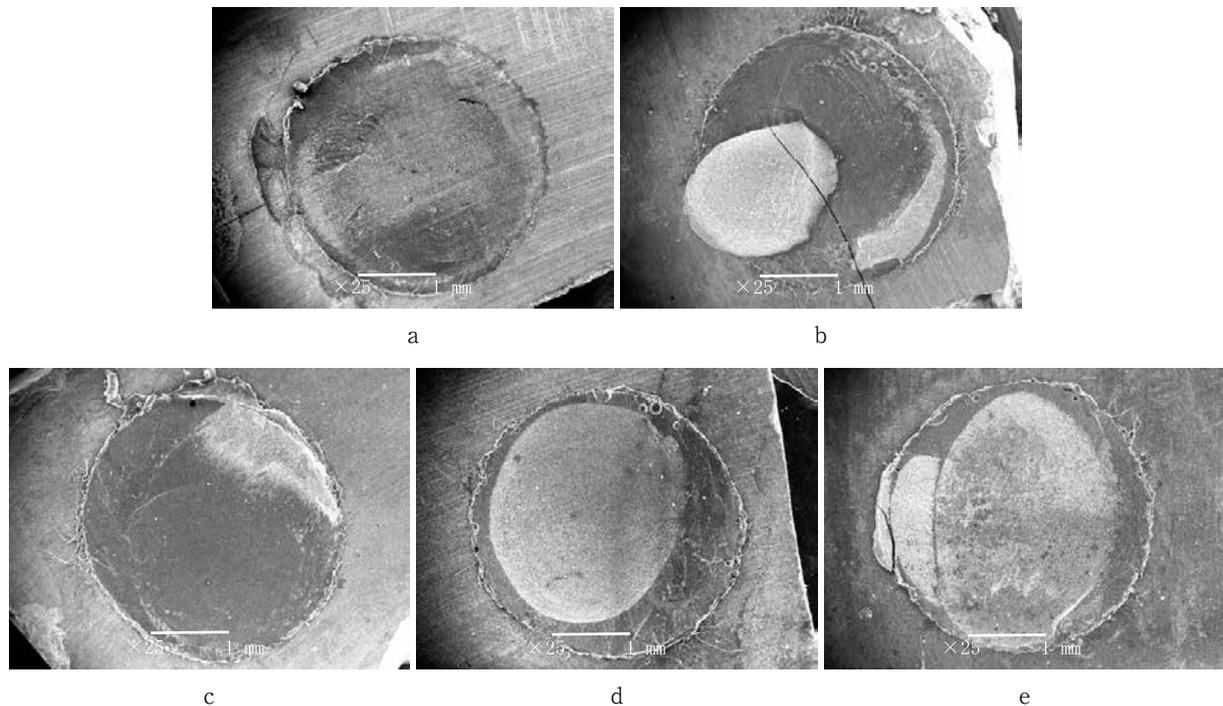
	XL3000		PenCure		PenCure 2000	
	MB	MB2	MB	MB2	MB	MB2
Adhesive failure					1	
Mixed failure	2		2			
Cohesion failure of bonding resin	3	4	2	3	4	5
Cohesion failure of dentin		1	1	2		

**Table 4** Failure mode analysis of irradiation distance 7.0 mm

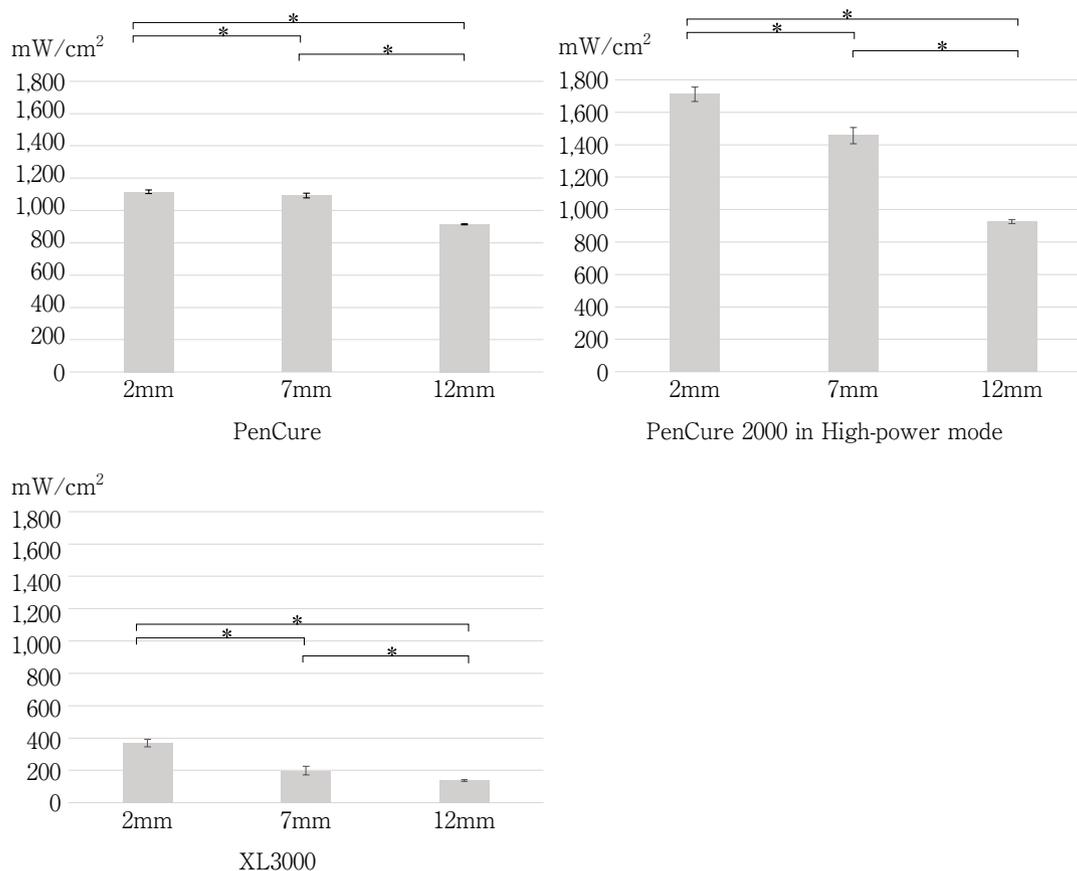
	XL3000		PenCure		PenCure 2000	
	MB	MB2	MB	MB2	MB	MB2
Adhesive failure	1					
Mixed failure			2		1	
Cohesion failure of bonding resin	4	4	3	5	4	4
Cohesion failure of dentin		1				1

**Table 5** Failure mode analysis of irradiation distance 12.0 mm

	XL3000		PenCure		PenCure 2000	
	MB	MB2	MB	MB2	MB	MB2
Mixed failure	3		2	1	2	
Cohesion failure of bonding resin	2	4	3	3	3	5
Cohesion failure of CR		1		1		

**Fig. 2** Typical example of failure mode

a : Adhesive failure, b : Mixed failure, c : Cohesion failure of bonding resin, d : Cohesion failure of dentin, e : Cohesion failure of CR



**Fig. 3** Results of light intensity

\* :  $p < 0.05$

ment, which is expected to also affect the bond strength. Therefore, in this study, the dentin bonding performance when light was irradiated on the bonding material with a halogen type irradiation device, a normal LED light irradiation device, and a high-output irradiation device at different irradiation distances was examined while using the conventional MB as well as MB2.

When the irradiation distance was small, MB, which is a conventional bonding system, did not show a significant difference in TBS whether PenCure, an LED light irradiation device, or XL3000, a halogen irradiation device, was used. However, no significant difference was observed for MB2 when irradiation was conducted under the high-power mode of PenCure 2000 for 3 seconds and when irradiation was conducted with PenCure for 10 seconds, even though TBS decreased significantly for MB when irradiation was conducted under the high-power mode of PenCure 2000 for 3 seconds. It is assumed that this result was obtained as sufficient polymerization occurred in the bonding material of

MB2 even with irradiation for 3 seconds, as it largely absorbed LED light and generated many highly active radical reactions, which increased the curing rate, as it contained a high-activity photopolymerization catalyst<sup>17)</sup>. When the irradiation distance was longer at 12.0 mm, TBS decreased significantly for both MB and MB2 when light irradiation was conducted with XL3000. However, when PenCure was used to irradiate light for 10 seconds, TBS values equivalent to those from an irradiation distance of 2.0 mm were obtained for both MB and MB2. It is surmised that this was because 800 mW/cm<sup>2</sup> was maintained and because the irradiation time was somewhat long at 10 seconds, even though the light intensity of PenCure decreased significantly at the irradiation distance of 12.0 mm compared to that at 2.0 mm. Furthermore, MB2 did not result in a high TBS value even with the high-power mode when the distance was longer, although TBS values equivalent to those of other irradiation devices could be attained in 3 seconds when the high-power mode of PenCure 2000 was used with the irradiation distance of 2.0 mm. Pen-

Cure 2000 also decreased in light intensity to approximately  $600 \text{ mW/cm}^2$  when the distance increased to 12.0 mm, even though it had the light intensity of approximately  $1,600 \text{ mW/cm}^2$  at 2.0 mm. Meanwhile, the light intensity of PenCure was approximately  $1,000 \text{ mW/cm}^2$  at 2.0 mm, and it did not decrease dramatically even at the irradiation distance of 12.0 mm with the light intensity remaining at approximately  $800 \text{ mW/cm}^2$ . It seems that the high-power mode of PenCure 2000 used different light condensing and guiding methods in order to increase the light intensity, which thus significantly deteriorated the light intensity of PenCure 2000 at longer irradiation distances, unlike PenCure, even though they are both LED irradiation devices. These findings suggest that it may not be capable of polymerizing the bonding material sufficiently when the distance is longer even in high-power mode, as the optical energy becomes weaker<sup>18)</sup>. As to the differences between the irradiation devices, high TBS values were attained for both MB and MB2 when PenCure was used to irradiate light even with a longer irradiation distance, whereas the TBS value decreased for both MB and MB2 when XL3000 was used to irradiate light with a longer irradiation distance. When observing the tensile fracture surface, adhesive failure was observed on MB fracture surfaces irradiated with PenCure 2000 in high-power mode for 3 seconds even when the irradiation distance was short. It is assumed that this occurred as the bonding between dentin and bonding material was insufficient with incomplete polymerization of the MB bonding material under light irradiation of 3 seconds.

### Conclusion

Both MB and MB2 did not show deterioration in TBS even with a longer irradiation distance when the conventional LED light irradiation device was used to irradiate light for 10 seconds. In addition, MB2 yielded a high TBS value even when the irradiation period of the high-output irradiation device was 3 seconds, as long as the irradiation distance was 2.0 mm. However, the TBS value decreased significantly for both MB and MB2 when the irradiation distance became longer under irradiation conditions with the high-power LED light or the halogen light.

There are no conflicts of interest to be disclosed regarding this study.

### References

- 1) Varnherle G, Smith DC. Posterior composite resin dental restorative materials. 1st ed. Peter Szulc Publishing: Amsterdam; 1985. 455-464.
- 2) Daido H, Kaneshiro N, Hosoda H. New technique for Class II restoration with visible light-curing composite resin. *J J Dent Mater* 1987; 6: 218-227. (in Japanese)
- 3) Fujii S. Study on marginal leakage of visible light-cured composite restorations. *Jpn J Conserv Dent* 1988; 31: 1043-1061. (in Japanese)
- 4) Darbyshire PA, Messer LB, Douglas WH. Microleakage in class II composite restorations bonded to dentin using thermal and load cycling. *J Dent Res* 1988; 67: 585-587.
- 5) Hembree JH Jr. Microleakage at the gingival margin of class II composite restorations with glass-ionomer liner. *J Prosthet Dent* 1989; 61: 28-30.
- 6) Tyas MJ, Anusavice KJ, Frencken JE, Mount GJ. Minimal intervention dentistry—a review. FDI commission Project: 1-97, *Int Dent J* 2000; 50: 1-12.
- 7) Peters MC, McLean ME. Minimally invasive operative care. I. Minimal intervention and concepts for minimally invasive cavity preparations. *J Adhes Dent* 2001; 3: 7-16.
- 8) Peters MC, McLean ME. Minimally invasive operative care. II. Contemporary techniques and materials: an overview. *J Adhes Dent* 2001; 3: 17-31.
- 9) Matsuzawa N, Ikejima I, Fujibayashi K, Momoi Y. The adhesive strength to dentin of resin composites with LED curing unit. *Jpn J Conserv Dent* 2004; 47: 253-260. (in Japanese)
- 10) Tashiro K, Matsuzawa N, Ori T, Yamamoto T, Fujibayashi K, Momoi Y. Photopolymerization of new thin bonding agent using high-power LED. *Jpn J Conserv Dent* 2004; 47: 642-649. (in Japanese)
- 11) The Illuminating Engineering Institute of Japan. Lighting handbook. 1st ed. Ohmsha: Tokyo; 1994. 108.
- 12) Fujibayashi K, Ishimaru K, Kohno A. Newly developed light-activation unit using blue light-emitting diodes. Part 1. A fundamental study. *Jpn J Conserv Dent* 1996; 39: 180-188. (in Japanese)
- 13) Takahashi N, Fujibayashi K, Ishimaru K, Kohno A. Newly developed light-activation unit using blue light-emitting diodes. Part 2. Effects of spectral distribution of SQW-LED on polymerization of resin composite. *Jpn J Conserv Dent* 1998; 41: 509-515. (in Japanese)
- 14) Mathis RS, DeWald JP, Moody CR, Ferracane JL. Mar-

- ginal leakage in class V composite resin restorations with glass ionomer liners in vitro. *J Prosthet Dent* 1990; 63: 522-525.
- 15) Cerekja E, Cakirer B. Effect of short curing times with a high-intensity light-emitting diode or high-power halogen on shear bond strength of metal brackets before and after thermocycling. *Angle Orthod* 2011; 81: 510-516.
- 16) Yoshihara K, Nagaoka N, Yoshida Y. Bond durability of phosphate monomers with different purity. *Adhes Dent* 2014; 32: 159. (in Japanese)
- 17) Kuraray Noritake Dental. Clearfil Mega Bond 2\_pamphlet. [https://www.kuraraynoritake.jp/product/adhesives/pdf/megabond2\\_catalog.pdf](https://www.kuraraynoritake.jp/product/adhesives/pdf/megabond2_catalog.pdf) (cited 2020. 10. 19)
- 18) Ouchi S, Hatsuoka Y, Onda K, Nomura Y, Yokota K, Matsuda T, Tsutani K, Hatashita Y, Yoshikawa K, Yamamoto K. Study on newly-developed high-power LED curing light unit—Influence on bonding resin—. *Jpn J Conserv Dent* 2014; 57: 19-28. (in Japanese)

## ボンディング材に対する光照射条件が コンポジットレジン象牙質接着強さに与える影響

黄地 智子 岩田 有弘 劉 海濤  
謝 洲 橋 王 翔 宇 諸 頭 秀 俊  
石 田 俊 輔 小 正 玲 子 保 尾 謙 三  
谷 本 啓 彰 吉 川 一 志 山 本 一 世

大阪歯科大学歯科保存学講座

### 抄録

目的：今回、高活性光重合触媒を配合したメガボンド2（以下、MB2、クラレノリタケデンタル）と従来のメガボンド（以下、MB、クラレノリタケデンタル）を用いて照射条件が引張接着強さ（以下、TBS）に与える影響の比較、検討を行った。

材料と方法：ヒト抜去歯に象牙質被着面を作製し、被着面積を直径3.0 mmに規定した。その後MBおよびMB2で製造者指示に従い歯面処理を行った後、光照射を2.0、7.0、12.0 mmと照射距離を変えて以下の照射条件で行った。1. ハロゲン照射器XL3000（3M ESPE, USA）10秒、2. 従来型LED照射器ペンキュア（モリタ）10秒、3. 高出力LED照射器ペンキュア2000（モリタ）のハイパワーモード3秒。その後コンポジットレジン充填した。すべての試料を24時間37°C水中保管した後、引張接着強さを測定した（n=5）。

結果：照射距離が2 mmの場合、MB2はハイパワーモード3秒照射でも十分なTBSを得ることができた。しかし照射距離が長くなると、MB2であっても3秒の光照射では十分なTBSを得ることができず、ペンキュア10秒照射でのみ十分なTBSを得ることができた。

結論：LEDを用いた場合、MB2は照射距離が長くても十分なTBSを得ることができたが、ほかの照射条件では十分なTBSを得るためには照射距離を短くする必要があることが示唆された。

キーワード：ボンディングシステム、引張接着強さ、LED光照射器

---

責任著者連絡先：黄地智子

〒540-0008 大阪市中央区大手前1-5-17 大阪歯科大学歯科保存学講座

TEL：06-6910-1087, FAX：06-6910-1052, E-mail：satoko-o@cc.osaka-dent.ac.jp

受付：2020年9月15日/受理：2020年11月17日

## インプラント周囲炎患者に対し Er : YAG レーザーを併用し 外科的治療を行った症例

安田 忠司<sup>1</sup> 山本 敦彦<sup>1,2</sup> 辰巳 順一<sup>1</sup>

<sup>1</sup>朝日大学歯学部口腔感染医療学講座歯周病学分野

<sup>2</sup>医療法人成仁会藤沢台山本歯科

### 抄録

緒言 : Er : YAG レーザーは、インプラント周囲炎治療の際にインプラント表面のデコンタミネーションに用いられている。本稿では、Er : YAG レーザーを用いたデコンタミネーション前後のインプラント表面の汚染度として、Lipopolysaccharide (LPS) を定量した。また臨床評価、細菌検査、cone-beam computed tomography (CBCT) による検査の結果より、インプラント周囲組織の改善を認めた症例を報告する。

症例 : 患者は68歳、女性、21部インプラント周囲溝からの排膿を主訴として来院した。上部構造装着期間は8年で全身疾患・喫煙歴はなく歯周疾患の既往があった。エックス線所見からインプラント周囲の支持歯槽骨の高度な吸収を認め、CBCT像よりインプラント長約1/2に及ぶ骨吸収像を示した。また、インプラント周囲ポケットにおける細菌検査から *Tannerella forsythensis*, *Treponema denticola*, *Fusobacterium nucleatum* を検出し、本症例の病態に関与していることが考えられた。歯周組織ならびにインプラント周囲組織検査の結果から、インプラントは動揺を認めなかったものの唇側中央に14 mm、唇側および口蓋側遠心に10 mmの Probing Pocket Depth (PPD) を認めたことよりインプラント周囲炎(重度)と診断した。消炎処置後の再評価で、インプラント部の唇側中央に13 mm、唇側および口蓋側遠心に10 mmの PPD が残存したため、インプラント周囲炎に対する外科的対応を行った。浸潤麻酔後、全層弁にて剥離したところ近心に根尖側3壁性、歯冠側に1壁性の垂直性骨欠損を認めた。Er : YAG レーザーを用いて、骨欠損周囲の炎症性肉芽組織およびインプラント表面のデコンタミネーションを注水下にて行った。デコンタミネーション前後でインプラント表面のLPSサンプルを各2回採取し、Limulus amoebocyte lysate法にて定量し平均値をLPS量とした結果、10.3755 EU/ml から0.0015 EU/ml に減少した。骨欠損部に対し骨補填材を填入後、コラーゲンメンブレンを設置し単純縫合にて閉創した。

成績 : 術後10カ月の再評価でインプラント部の PPD は2~3 mm に安定したため、Supportive Periodontal Therapy に移行した。術前と術後12カ月の歯周病関連細菌検査を比較すると総菌数の減少を認め、また *T. forsythensis*, *T. denticola*, *F. nucleatum* の菌数の減少を認めた。CBCT の評価から、術前はインプラント体1/2に及ぶ骨吸収を認めたものの、術後5年ではインプラント周囲不透過像の亢進を認めた。

結論 : 本症例では、インプラント周囲炎の治療において Er : YAG レーザーによるデコンタミネーションを行った結果、インプラント表面のLPSを減少させ、その結果として良好な組織再生が得られ、長期的に安定した状態を維持することができた。

キーワード : インプラント周囲炎, Er : YAG レーザー, リポポリサッカライド

責任著者連絡先 : 安田忠司

〒501-0296 岐阜県瑞穂市穂積1851 朝日大学歯学部口腔感染医療学講座歯周病学分野

TEL & FAX : 058-329-1452, E-mail : tadashi@dent.asahi-u.ac.jp

受付 : 2020年9月7日/受理 : 2020年11月2日

DOI : 10.11471/shikahozon.63.563

## 緒言

歯科用インプラント治療は、予知性の高い欠損補綴方法として良好な治療成績が報告されている<sup>12)</sup>。しかしながらメンテナンス期における頻度の高い合併症としてインプラント周囲炎があり、患者単位で約19~56%、インプラント単位で10~43%発症することが報告されていることから、インプラント治療の予知性を低下させる重大な疾患として認知されている<sup>3,4)</sup>。現在、インプラント周囲炎の治療はチタンブラシや超音波スケーラーによるインプラント表面の汚染物質の除去があるものの、インプラントの表面性状を維持し汚染物質を除去することは困難である<sup>5-7)</sup>。近年、Er:YAGレーザーがインプラント周囲炎の治療へ臨床応用されている<sup>8,9)</sup>。その作用機序としては2.94  $\mu\text{m}$  のパルス波で振動され、生体組織の表面で吸収され水分の気化に伴い微小爆発を生じ、組織破壊を起こすことが知られている<sup>2,10,11)</sup>。山本らはEr:YAGレーザーをインプラント周囲炎局所に用いることにより温度上昇を最小限にとどめて、かつインプラント表面構造を数 $\mu\text{m}$  蒸散剝離することを報告している<sup>11,12)</sup>。

一般に、歯周病やインプラント周囲炎は歯周ポケット内のグラム陰性嫌気性桿菌の感染による病変であることから、それら細菌と細菌由来の菌体内毒素である Lipopolysaccharide (LPS) の除去が重要である<sup>13-16)</sup>。インプラント周囲炎は歯周病と同様に細菌感染により誘発され、インプラント周囲の炎症反応から骨吸収を生じる<sup>17)</sup>。この骨吸収にLPSが深くかかわっていることから、Kubotaらはインプラント汚染部位にダクロン樹脂製スワブを擦過させインプラント表面のLPSを定量した結果、Er:YAGレーザー照射によるデコンタミネーションは有意にLPSの除去効果を認め、インプラント周囲炎に有効であると報告している<sup>18)</sup>。

そこで、インプラント周囲炎に対しEr:YAGレーザーを用いてデコンタミネーション前後にKubotaらの方法を用いてLPSを定量し、再生治療を行った症例を報告する。

## 症例

患者は68歳女性、近医にてインプラントおよび歯周組織のメンテナンスを行っていたものの、上顎左側中切歯部のインプラント部からの排膿が改善しないことを主訴に朝日大学医科歯科医療センター歯周病科に来院した。全身疾患の既往や喫煙歴はない。プラークコントロールは良好であったが、21インプラント部において9~13 mmのポケットとプロービング時の出血、排膿を

認めた。エックス線写真検査を行い、同部位にインプラントプラットフォームから1/2程度の骨吸収を確認した。Froumらの分類<sup>19)</sup>で重度に相当し、周囲粘膜の炎症、全周にわたる骨欠損を伴い、中程度から高度な垂直性骨吸収ならびに違和感などの臨床症状を認めた。以上の検査結果からインプラント周囲炎と診断し、消炎処置後に再評価を行い、インプラント周囲炎に対する外科的処置を行う計画を立案した。治療に付随し、口腔清掃指導後、全顎的なスケーリング・ルートプレーニングを行った。再評価時に21インプラント部に高度なポケットが残存し、BOPが陽性のため、インプラント周囲炎に対する外科的処置を行うこととした。患歯の歯周病関連細菌は株式会社ビー・エム・エルに委託し、Invader法にて行った。結果をTable 1に示す。総菌数は46,000コピー、*Prevotella intermedia*、*Porphyromonas gingivalis*は10コピー未満、*Tannerella forsythensis*は5,400コピー、*Treponema denticola*は97コピー、*Fusobacterium nucleatum*は5,400コピーであった。

インプラントの動揺は認められなかった。外科的処置に対するインフォームドコンセントを患者に行い、同意を得たうえでインプラント周囲炎に対しEr:YAGレーザーを用いた再生治療を行った。

## 治療経過

術前の口腔内写真をFig. 1A, Bに示す。唇側中央部に13 mm、口蓋側遠心に10 mmの高度なProbing Pocket Depth (PPD)、唇側に3 mmの歯肉退縮を認めた。術前のデンタルエックス線写真をFig. 1Cに示す。近心に垂直性骨吸収、遠心にインプラント1/2に達する骨吸収を認めた。2%キシロカイン(1/8万アドレナリン添加)局所麻酔下で、12歯から23歯に切開および全層弁剝離を行った。インプラント体に動揺はないものの、その周囲は広範囲に骨吸収を認め、不良肉芽に覆われており、さらにインプラント体表面にプラークと歯石の沈着を認めた(Fig. 2A)。Er:YAGレーザー(アーウイン、モリタ)を用いて、骨欠損周囲・底部の炎症性肉芽組織およ

Table 1 Microbiological analysis

	PreOpe	PostOpe
Total number of bacteria	46,000	<1,000
<i>P. intermedia</i>	<10	<10
<i>P. gingivalis</i>	<10	<10
<i>T. forsythensis</i>	5,400	<10
<i>T. denticola</i>	97	<10
<i>F. nucleatum</i>	5,400	<27

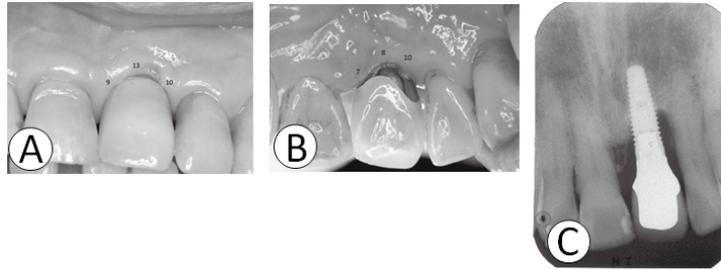


Fig. 1 Intraoral photographs and dental radiograph before surgery

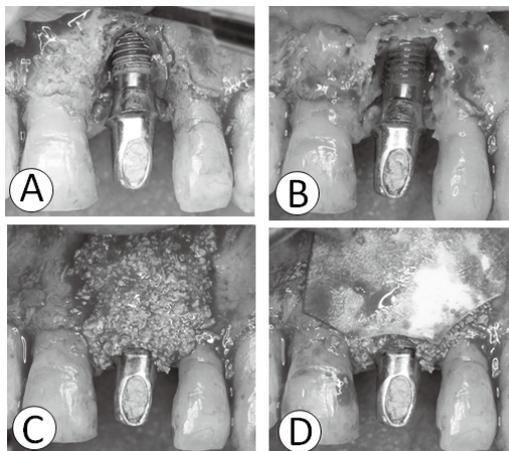


Fig. 2

(A) Clinical view at the time of periodontal surgery showing circumferential bone defect. (B) Debridement and decortication using Er:YAG laser were performed. (C) Graft (Bio-Oss) insertion was performed. (D) Collagen membrane (Bio-Gide) was applied.

びインプラント表面の不良肉芽除去とデコンタミネーションを滅菌注射用水の注水下で行った (Fig. 2B). 不良肉芽の除去後、近遠心に3壁性の垂直性骨欠損を認めた。インプラント体周囲の不良肉芽はPS600TSのチップを用い、毎分7 mlの注水下で、30~70 mJ, 20ppsのパネル値にて蒸散除去を行った。インプラント表面はPS600TS, CS600F, C800Fを使用し、30~100 mJ, 20ppsのパネル値にて蒸散除染した。インプラント表面のLPS採取はダクロン樹脂製スワブ (FLOQSwabs 56780CS01, COPAN) を用いた。LPS採取方法は歯肉弁剥離直後とEr:YAGレーザーによるデコンタミネーション後にインプラントの表面をエアにて乾燥させ、5秒間擦過し、周囲の歯肉弁や唾液に触れないように採取し、LPSフリー蒸留水1 ml (大塚蒸留水, 大塚製薬) にて溶解させ、試料に含まれるLPSをLimulus amoebocyte lysate法にて定量した。試料の採取面は各回同部位を2回採取し、平均値をLPS量とした。本法の検出下限

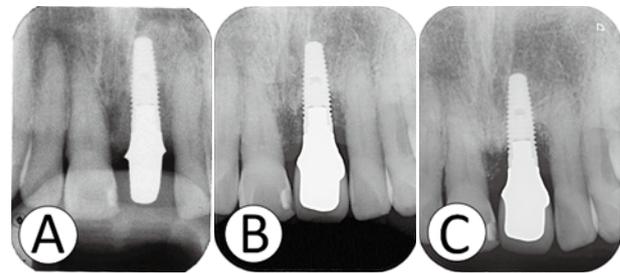


Fig. 3 Dental radiographs just (A), 1 year (B) and 5 years (C) after surgery

は0.001 EU/mlである。LPSの定量は株式会社ビー・エム・エルに委託した。LPSの採取、定量方法はKubotaらの方法に準拠した<sup>18)</sup>。デコンタミネーション後、PS600TSを用いて骨欠損周囲骨面のレーザーデコルチケーション (皮質骨穿孔) を行った (Fig. 2B)。その後、唇側のインプラントが露出した高度な骨吸収、舌側の3壁性骨欠損に対し骨再生におけるスキャホールドの役割として骨伝導能がある骨補填材 (Bio-Oss, Geistlich Pharma Japan K. K) を填入した (Fig. 2C)。移植骨の安定性を向上させる目的でコラーゲンメンブレン (Bio-Gide, Geistlich Pharma Japan K. K) を設置し、単純縫合にて閉創した (Fig. 2D)。術直後のデンタルエックス線写真を Fig. 3A に示す。術後に抗菌薬を投与し、抜糸は2週間後に行った。術後1週間で軟組織の炎症は縮小し、2週間後に創の一時閉鎖が得られたため抜糸を行った。抜糸後インプラント部の清掃を軟毛ブラシにて行うように指導した。術後12カ月のデンタルエックス線写真を Fig. 3B に示す。術前と比較し術後12カ月ではインプラント周囲の不透過性が亢進し、インプラント支持骨の平坦化を認めた。PPDは術前に唇側に13 mm, 口蓋側に10 mmであったが、術後12カ月の再評価時では唇側4 mm, 口蓋側3 mmとなり、Bleeding on Probing (BOP) も陰性になった。術後5年経過しているもののプラークコントロールは良好で、安定した状態を維持している (Fig. 3C) が唇側の歯肉退縮によりアバットメントが露出し審美不良となった (Fig. 4A)。インプラント部の口

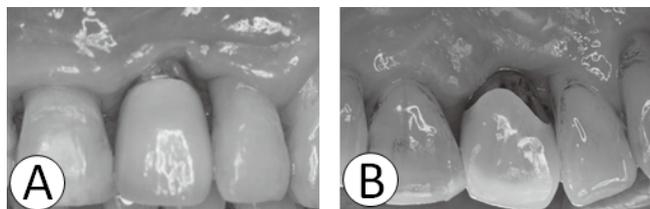


Fig. 4 Intraoral photographs 5 years after surgery

Table 2 LPS endotoxin unit pre- and post- Er:YAG laser decontamination on the implant surfaces

	Pre decontamination	Post decontamination
First	8.444	0.001
Second	12.307	0.002
Average	10.3755	0.0015 (EU/ml)

A significant decrease in LPS endotoxin unit was observed after Er:YAG laser decontamination.

蓋側遠心に歯肉退縮を認めた (Fig. 4B). 術後 12 カ月で歯周病関連細菌を定量し術前と比較した結果, 総菌数は 46,000 から 1,000 未満に減少した. *P. intermedia*, *P. gingivalis* に著変は認められなかったものの, *T. forsythensis* と *T. denticola* は 10 コピー未満に減少し, *F. nucleatum* は 27 コピー未満に減少した (Table 1). レーザーによるデコンタミネーション前後を比較した結果, LPS 量は平均 10.3755 EU/ml から 0.0015 EU/ml に減少した (Table 2).

術前の cone-beam computed tomography ではインプラント体 1/2 に及ぶ骨吸収を認めたものの, 術後 5 年ではインプラント周囲の骨様不透過像の亢進を認めた (Fig. 5). なお使用した薬剤・材料・医療機器は厚生労働省の認可済みである.

## 考 察

本症例では, インプラント周囲炎に対し, Er:YAG レーザーを汚染インプラント体の除染に用いた後に骨補填材を填入して再生治療を行った. また Er:YAG レーザー照射下によるデコンタミネーションによる有効性を, インプラント体表面の LPS の変化で検討したものである. 治療の結果, 術後 12 カ月において術前に比ベ有意に PPD, BOP が改善し, デンタルエックス線上で不透過性の亢進を示した. また, 術後 5 年経過しているもののプラークコントロールは良好で, 安定した状態を維持している. インプラント周囲炎に Er:YAG レーザーを用いた有効性はこれまでの報告と一致する<sup>20,21)</sup>が, 今回

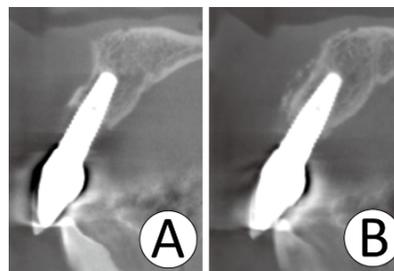


Fig. 5 Cone beam computed tomography sagittal sectional image at pretreatment (A) and 5 years after treatment (B)

の検討により Er:YAG レーザー照射によってインプラント体表面の LPS 量が顕著に減少したことが明らかとなった.

インプラント周囲炎を治療する際, インプラント体周囲のプラーク, 歯石と不良肉芽組織の除去が不可欠であるものの, スケーラーやチタンブラシなど従来の方法では完全に除去することは不可能である<sup>22)</sup>. 山本らは Er:YAG レーザーが水に吸収される際に起こる微小爆発を利用して, インプラント体の温度上昇を最小限にとどめ, かつインプラント表面を数  $\mu\text{m}$  蒸散剥離し, インプラント体表面を 1 層除去することを報告した<sup>12)</sup>.

本症例は, インプラント埋入時に骨増大を併用している. このような症例では術後の骨吸収を認めることが報告されている<sup>23)</sup>. 歯肉弁を剥離回転するとインプラント体周囲の骨吸収が大きく, インプラントに多量の歯石が付着していた. Er:YAG レーザーを用いることにより, 鋭匙などの従来の手用器具が挿入不可能な深い骨縁下ポケットまで容易にインプラント表面を蒸散することができた.

本論文では Er:YAG レーザーによる, インプラント表面の LPS の除去効果について臨床的に初めて報告した. その結果, これまでに *in vitro* や動物実験の研究で示唆されていたように<sup>24,25)</sup>, Er:YAG レーザーがインプラント表面の LPS を効果的に除去することを明らかにした. Er:YAG レーザーは照射に伴うインプラント体や周囲組織の温度を上昇させず<sup>26,27)</sup>, 殺菌効果<sup>28)</sup>があることから, 生体に対する為害性が少ないとする論文がある<sup>29)</sup>. レーザー照射後の LPS 除去効果は, Er:YAG レーザー照射による水と反応した微小爆発による不良肉芽や歯石の除去, キャピテーションによる洗浄効果によって得られたと推測する. 過去の報告から, Er:YAG レーザーは水中で照射するとチップ表面の水は沸点に達し, 気泡を発生させさらに水流を生じさせる<sup>30)</sup>ことからインプラント表面においても LPS と細菌の除去に関与する

と考えられる。歯周炎における歯根表面のLPS<sup>31)</sup>と比較し、インプラント表面はよりLPSが多く検出されたが、これはインプラント体表面の複雑な構造が影響していると考えられる。

歯周ポケット内の歯周病原性細菌叢を分析することは、歯周炎の病因を解明するために重要であることが報告されている<sup>32)</sup>。インプラント周囲炎のポケット内細菌叢の分析も、歯周炎と同様に重要であると考えられる。過去の報告では、インプラント周囲炎部位へ非外科的にEr:YAGレーザーを照射した結果、照射前と照射後3カ月の比較では有意な差は認められなかった<sup>33)</sup>。本症例では、術後12カ月で総菌数の減少と*T. forsythensis*, *T. denticola*, *F. nucleatum*の減少を認めた。これは、フラップを剥離回転しさまざまな角度からデコンタミネーションでき、有意に周囲LPS量を低下させたことによると考えられる。

インプラント周囲炎に対し、Er:YAGレーザーを用いた肉芽組織および付着構造物の除去、またスレッドを破壊せずにLPSを除去することができることが明らかとなり、インプラント周囲炎の治療法の一助となることが示唆された。しかしながら、インプラント周囲炎の病態は多様であり、またインプラント体の種類も数多いことから、種々のインプラント表面に対するEr:YAGレーザー照射による構造変化などを今後詳細に検索していく予定である。

## 結 論

本症例で、インプラント周囲炎の治療においてEr:YAGレーザーによるデコンタミネーションを行った結果、インプラント表面のLPSを有意に減少させ、その結果として良好な組織再生が得られ、長期的に安定した状態を維持することができた。

本論文で開示すべき利益相反状態はない。

## 文 献

- Adell R, Eriksson B, Lekholm U, Brånemark PI, Jemt T. Long-term follow-up study of osseointegrated implants in the treatment of totally edentulous jaws. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1990; 5: 347-359.
- Kayano T, Ochiai S, Kiyono K, Yamamoto H, Nakajima S, Mochizuki T. Effects of Er: YAG laser irradiation on human extracted teeth. *Kokubyo Gakkai Zasshi* 1989; 56: 381-392.
- Seka W, Featherstone JDB, Fried D, Visuri SR, Walsh JT. Laser ablation of dental hard tissue: from explosive ablation to plasma-mediated ablation. *SPIE Int Soc Opt Eng* 1996; 2672: 144-158.
- Moraschini V, Poubel LA, Ferreira VF, Barboza Edos S. Evaluation of survival and success rates of dental implants reported in longitudinal studies with a follow-up period of at least 10 years: a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2015; 44: 377-388.
- Tey VHS, Phillips R, Tan K. Five-year retrospective study on success, survival and incidence of complications of single crowns supported by dental implants. *Clin Oral Implants Res* 2017; 28: 620-625.
- Zitzmann NU, Berglundh T. Definition and prevalence of peri-implant diseases. *J Clin Periodontol* 2008; 35: 286-291.
- Fox SC, Moriarty JD, Kusy RP. The effects of scaling a titanium implant surface with metal and plastic instruments: an in vitro study. *J Periodontol* 1990; 61: 485-490.
- Clem D, Gunsolley JC. Peri-implantitis treatment using Er: YAG laser and bone grafting. A prospective consecutive case series evaluation: 1 year post therapy. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2019; 39: 479-489.
- Yoshino T, Yamamoto A, Ono Y. Innovative regeneration technology to solve peri-implantitis by Er: YAG laser based on the microbiologic diagnosis: a case series. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2015; 35: 67-73.
- Seka W, Featherstone JDB, Fried D, Visuri SR, Walsh JT. Laser ablation of dental hard tissue: from explosive ablation to plasma-mediated ablation. *SPIE Int Soc Opt Eng* 1996; 2672: 144-158.
- Yamamoto A, Tanabe T. Treatment of peri-implantitis around TiUnite-surface implants using Er: YAG laser microexplosions. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2013; 33: 21-30.
- 山本敦彦, 田辺俊一郎, 片木紘樹, 山本宏治. Er:YAG Laserのインプラント周囲炎への応用. *日レ歯誌* 2009; 20: 81-87.
- Darveau RP, Tanner A, Page RC. The microbial challenge in periodontitis. *Periodontol* 2000 1997; 14: 12-32.
- Sveen K. The capacity of lipopolysaccharides from bacteroides, fusobacterium and veillonella to produce skin inflammation and the local and generalized Shwartzman reaction in rabbits. *J Periodontal Res* 1977; 12: 340-350.
- Irving JT, Socransky SS, Tanner AC. Histological changes in experimental periodontal disease in rats monoinfected with gram-negative organisms. *J Periodontal Res* 1978; 13: 326-332.
- Raetz CR. Biochemistry of endotoxins. *Annu Rev Biochem* 1990; 59: 129-170.
- Leonhardt A, Berglundh T, Ericsson I, Dahlén G. Putative periodontal pathogens on titanium implants and teeth in experimental gingivitis and periodontitis in bea-

- gle dogs. *Clin Oral Implants Res* 1992; 3: 112-119.
- 18) Kubota T, Yamamoto A, Komatsu Y, Nohno K, Yasuda T, Takahashi T, Torikata R, Tsumori N, Shibutani T, Umeda M, Yoshie H. Effectiveness of erbium-YAG laser for regenerative surgical treatment of peri-implantitis: clinical, microbiological, and biomarker analyses. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2020; In press.
  - 19) Froum SJ, Rosen PS. A proposed classification for peri-implantitis. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2012; 32: 533-540.
  - 20) Yoshino T, Yamamoto A, Ono Y. Innovative regeneration technology to solve peri-implantitis by Er-YAG laser based on the microbiologic diagnosis: a case series. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2015; 35: 67-73.
  - 21) Clem D, Gunsolley JC. Peri-implantitis treatment using Er: YAG laser and bone grafting. A prospective consecutive case series evaluation: 1 year posttherapy. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2019; 39: 479-489.
  - 22) Sahrman P, Ronay V, Hofer D, Attin T, Jung RE, Schmidlin PR. In vitro cleaning potential of three different implant debridement methods. *Clin Oral Implants Res* 2015; 26: 314-319.
  - 23) Canullo L, Tallarico M, Radovanovic S, Delibasic B, Covani U, Rakic M. Distinguishing predictive profiles for patient-based risk assessment and diagnostics of plaque induced, surgically and prosthetically triggered peri-implantitis. *Clin Oral Implants Res* 2016; 27: 1243-1250.
  - 24) Yamaguchi H, Kobayashi K, Osada R, Sakuraba E, Nomura T, Arai T, Nakamura J. Effects of irradiation of an erbium: YAG Laser on root surfaces. *J Periodontol* 1997; 68: 1151-1155.
  - 25) Matsuyama T, Aoki A, Oda S, Yoneyama T, Ishikawa I. Effects of the Er: YAG laser irradiation on titanium implant materials and contaminated implant abutment surfaces. *J Clin Laser Med Surg* 2003; 21: 7-17.
  - 26) Kreisler M, Al Haj H, d'Hoedt B. Temperature changes at the implant-bone interface during simulated surface decontamination with an Er: YAG laser. *Int J Prosthodont* 2002; 15: 582-587.
  - 27) Takagi T, Aoki A, Ichinose S, Taniguchi Y, Tachikawa N, Shinoki T, Meinzer W, Sculean A, Izumi Y. Effective removal of calcified deposits on microstructured titanium fixture surfaces of dental implants with erbium lasers. *J Periodontol* 2018; 89: 680-690.
  - 28) Kreisler M, Kohnen W, Marinello C, Götz H, Duschner H, Jansen B, d'Hoedt B. Bactericidal effect of the Er: YAG laser on dental implant surfaces: an in vitro study. *J Periodontol* 2002; 73: 1292-1298.
  - 29) Schwarz F, Becker J. Peri-implant infection: Etiology, diagnosis and treatment. Quintessence Publishing. 2007; London. 132-136.
  - 30) 吉嶺嘉人, 松本妃可, 佐藤浩美, 坂田篤信, 西原正治. Er: YAG レーザーを用いた根管内洗浄効果に関する研究. *日レ歯誌* 2010; 21: 78-82.
  - 31) Yasuda T, Sato T. Effect of Er: YAG laser irradiation during flap surgery on dose of lipopolysaccharide that exists on the exposed cementum surface. *J Gifu Dent Soc* 2019; 46: 99-106.
  - 32) Hajishengallis G, Lamont RJ. Beyond the red complex and into more complexity: the polymicrobial synergy and dysbiosis (PSD) model of periodontal disease etiology. *Mol Oral Microbiol* 2012; 27: 409-419.
  - 33) Komatsu Y, Kubota T, Yasuda T, Takahashi T, Yamamoto A, Kono T, Tabata H, Nohno K, Shibutani T, Umeda M, Yoshie H. Effectiveness of an erbium-doped: yttrium, aluminum and garnet laser for treatment of peri-implant disease: Clinical, microbiological, and biochemical marker analyses. *J Clin Exp Dent* 2018; 10: 970-978.

## Surgical Treatment of Peri-implantitis by Using Er: YAG Laser: A Case Report

YASUDA Tadashi<sup>1</sup>, YAMAMOTO Atsuhiko<sup>1,2</sup> and TATSUMI Junichi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Periodontology, Division of Oral Infections and Health Sciences, Asahi University School of Dentistry  
<sup>2</sup>Perio-Implant Hospital AUTIS

### Abstract

**Purpose:** The erbium: YAG (Er: YAG) laser is used for decontaminating implant surfaces in the treatment of peri-implantitis. In this study, we quantified lipopolysaccharides (LPS) before and after decontaminating the contaminated layer on the implant surface, using an Er: YAG laser. In addition, we report that the peri-implantitis of the patient improved, based on the results of clinical evaluation, bacteriological examination, and cone-beam computed tomography (CBCT).

**Patient:** A 68-year-old woman visited our hospital with the chief complaint of drainage from an implant. Her implant superstructures had been installed eight years ago, and she had no systemic disease except periodontal disease. X-ray examination revealed high resorption of the alveolar bone around the implant, and CBCT images revealed bone resorption; the resorbed bones were half the length of the implant. In addition, bacterial examination of the peri-implant pocket revealed *Tannerella forsythensis*, *Treponema denticola*, and *Fusobacterium nucleatum*. Although the implant showed no mobility, the probing periodontal pocket depth (PPD) of the labial center was 14 mm, and the distopalatal PPD was 10 mm. After the initial periodontal therapy, the PPD was 10–13 mm, and it bled on probing. Therefore, a surgical procedure was performed to treat the peri-implantitis. After administration of anesthesia, a full-thickness flap was raised, and a vertical bone defect with three walls on the apical side and one wall on the crown side was observed. The inflammatory tissue around the bone defect and the implant surface were decontaminated using an Er: YAG laser with water spray. LPS on the implant surface were sampled twice before and after decontamination and quantified using the Limulus amoebocyte lysate method. The average of all the values was used as the LPS value, which decreased from 10.3755 to 0.0015 EU/ml. Bio-Gide was applied after insertion of Bio-Oss, and the flap was repositioned and sutured.

**Results:** The PPD of the implant site stabilized at 2–3 mm 10 months after the procedure. A comparison of periodontal disease-related bacterial tests before and 12 months after surgery revealed that the numbers of *T. forsythensis*, *T. denticola*, and *F. nucleatum* decreased after surgery. Newly formed bone was observed in the intrabony defect from the CBCT images.

**Conclusion:** In this case, the contaminated layer on the implant surface was decontaminated by an Er: YAG laser used for the treatment of peri-implantitis, along with reduction of LPS on the implant surface, facilitating long-term bone regeneration.

**Key words:** peri-implantitis, Er: YAG laser, lipopolysaccharide

日本歯科保存学雑誌 第63巻総目次  
(2020年)

**THE JAPANESE JOURNAL  
OF CONSERVATIVE DENTISTRY  
VOLUME 63, 2020**

## 第1号 (令和2年2月29日発行)

## 原 著

- Study on Rehardening of Demineralized Dentin with the New Pulp-capping Agents  
Containing Bioactive Glass.....SAWAI Kenshiro, YASUO Kenzo, KOMASA Reiko,  
YOSHIKAWA Kazushi and YAMAMOTO Kazuyo ( 1 )
- バルクフィルコンポジットレジンの硬化初期における重合収縮応力の  
発生挙動と窩洞切断面の観察.....神谷 直孝, 神谷 昌宏, 藤田 (中島) 光  
岩崎 太郎, 谷本 安浩, 平山 聡司 ( 14 )
- 講義および実習試験の評価による歯周病学教育のあり方の考察  
.....成石 浩司, 坂本英次郎, 生田 貴久  
木戸 理恵, 木戸 淳一, 湯本 浩通 ( 22 )
- Visual Analog Scale (VAS) を用いたコンポジットレジンの色調適合評価  
.....小野瀬里奈, 大原 直子, 松崎久美子  
澁谷 和彦, 横山 章人, 高橋 圭  
神農 泰生, 山路 公造, 島田 康史  
吉山 昌宏 ( 30 )
- 歯科診療アシストスーツの開発と機能評価.....石井 信之, 水野 潤造, 武藤 徳子  
鈴木 二郎, 室町幸一郎, 下島かおり  
藤巻 龍治, 宇都宮舞衣, 山田 寛子  
木庭 大槻, 許 多, 佐藤イテヒョン  
清水 千晶, 田中 俊, 林田優太郎  
菅原 美咲 ( 38 )
- 未重合レジンセメントと未重合フロアブルレジンの結合力.....杉井 英樹, 吉田晋一郎, 友清 淳  
濱野さゆり, 長谷川大学, 前田 英史 ( 44 )
- トリブチルボランを重合開始剤とする新規レジン複合型 mineral trioxide  
aggregate (MTA) 系材料の辺縁封鎖性に関する検討.....井波 智鶴, 岩崎小百合, 西谷 佳浩  
伊津野真一 ( 52 )
- 機能性糖脂質ビザンチンの *Streptococcus mutans* に対する抗バイオフィーム効果  
—スクロース濃度の影響とバイオフィーム形成関連遺伝子の発現解析—  
.....竹中 彰治, 長谷川泰輔, 小田 真隆  
高橋 直紀, 磯野 俊仁, 大倉 直人  
山本 博文, 多部田康一, 野杵由一郎 ( 61 )
- 難治性根尖性歯周炎における抗菌ナノパーティクル含有ナノバブル水による  
根管除菌効果の検討.....庵原耕一郎, 中島美砂子 ( 73 )
- キャビテーション気泡を含む水流による口腔洗浄器の効果.....鴨井 久博, 吉峰 正彌, 三浦 悠  
濱田真理子 ( 83 )
- 症例報告
- One-year Follow-up of Maxillary Right First and Second Molars  
Sealed with Bioactive Glass-based Root Canal Sealer Using the Single-cone Obturation Technique  
.....WASHIO Ayako, ODA Masafumi, MORIMOTO Yasuhiro  
and KITAMURA Chiaki ( 90 )
- 低侵襲の歯周外科治療に Er : YAG レーザーを応用した症例の長期経過  
.....水谷 幸嗣, 三上理沙子, 松浦 孝典  
和泉 雄一, 岩田 隆紀, 青木 章 ( 96 )

## 第2号 (令和2年4月30日発行)

## 誌上シンポジウム

- 保存治療のイノベーション.....野杵由一郎, 西村 英紀 ( 125 )
- 口腔細菌パターンを“健康型”へと変える試み.....南部 隆之 ( 127 )

- 光干渉断層計 (OCT) を用いた齲蝕の診断.....島田 康史 (131)
- インドシアニングリーン封入ナノ粒子と半導体レーザーによる抗菌光線力学療法の  
 歯内治療への応用.....樋口 直也 (135)
- 歯肉幹細胞由来エクソソームによる炎症制御.....福田 隆男 (140)
- 原 著
- Porphyromonas gingivalis* がヒト口腔粘膜上皮細胞に与える影響の  
 3次元構築モデルによる解析.....笠 孝成, 内田 邦敏, 岡村 和彦  
 八田 光世, 山崎 純, 坂上 竜資 (144)
- Remineralization Potential of a Calcium-fluoroaluminosilicate Glass-based  
 Desensitizer on Artificial Human Enamel Subsurface Lesions  
 .....HAMBA Hidenori, NAKAMURA Keiki, NIKAIDO Toru,  
 FURUSAWA Masahiro, TAGAMI Junji and MURAMATSU Takashi (156)
- 1ステップ PMTC 用ペーストによる機械的清掃  
 —荷重と時間が CAD/CAM 用歯冠色修復材料の表面性状に与える影響—  
 .....内川竜太郎, 大木 茜, 春山亜貴子, 杉山 利子  
 小町谷美帆, 小松 佐保, 甲田 訓子, 奥瀬 稔之  
 森 啓, 吉成 伸夫, 亀山 敦史 (165)
- 機能性糖脂質ビザンチンによる *Streptococcus mutans* の付着抑制効果  
 —表面性状の変化と付着関連遺伝子の発現解析—  
 .....竹中 彰治, 長谷川泰輔, 小田 真隆, 山本 博文, NAKSAGOON Traithawit  
 永田 量子, 鈴木 裕希, 大墨 竜也, 野村由一郎 (173)
- Comparison of Obturation Ratios between the Thermafil Obturator and NT Condenser  
 with Obturation Gutta NT Using Micro-CT Analysis  
 .....SHIMIZU Kohei, YASUKAWA Takuya, HATORI Keisuke, SUZUKI Yusuke,  
 TAKEICHI Osamu, HAYASHI Makoto, SUGURO Hisashi, NAKAMURA Takeshi,  
 TAMURA Takahito, KOBAYASHI Hiroshi, HIRANO Yoriyuki and OGISO Bunnai (181)
- 歯根尖切除術の教育用顎模型システムの開発とその評価.....高見澤哲矢, 半田 慶介, 鈴木 重人  
 長谷川達也, 中野 将人, 八幡 祥生, 齋藤 正寛 (188)
- 乾燥が成形修復材料の質量および曲げ強度に及ぼす影響.....澁谷 和彦, 大原 直子, 入江 正郎  
 小野瀬里奈, 松崎久美子, 松本 卓也, 吉山 昌宏 (199)
- Ni-Ti ロータリーファイルを用いた根管形成の術者間比較  
 —ソフトレシプロックによる根管形成能の評価—  
 .....赤堀 裕樹, 木方 一貴, 長谷川智哉, 田中 雅士, 堺 ちなみ, 小島 莉里  
 和仁 護, 加藤 友也, 伊藤 智美, 瀧谷 佳晃, 吉田 隆一, 河野 哲 (207)

## 第 3 号 (令和 2 年 6 月 30 日発行)

## 原 著

- 塩基性線維芽細胞増殖因子 (FGF-2) 製剤を用いた歯周組織再生療法の治療成績  
 .....沢田 啓吾, 北村 正博, 長谷川詩織, 森本 千晶, 平井 麻絵, 今井 昂  
 川崎 公輔, 橋本 康樹, 麻生 桃子, 辻井 翔一, 野田亜利紗, 花田 滉輔  
 政近 健司, 藤田 翔子, 鈴木 美麻, 八木 寛子, 池上久仁子, 山本 智美  
 森 健太, 中村 友美, 小笹 匡雄, 北垣次郎太, 岩山 智明, 柏木陽一郎  
 藤原 千春, 三木 康史, 竹立 匡秀, 山下 元三, 野崎 剛徳, 村上 伸也 (219)
- Shaping Ability of the *WaveOne Gold* Instrument in Torque Generation with and  
 without Establishing Different Glide Paths.....SHIMOJIMA Kaori, MUTOH Noriko, UTSUNOMIYA Mai,  
 YAMADA Hiroko and TANI-ISHII Nobuyuki (228)
- 高齢双生児の歯周病病態と遺伝・環境要因の影響度.....池上久仁子, 山下 元三, 三木 康史, 久留島悠子  
 高阪 貴之, 鈴木 美麻, 榎木 香織, 松田 謙一  
 北村 正博, 池邊 一典, 大阪ツインリサーチグループ, 村上 伸也 (236)

## 人間ドック受診者に対する歯周病スクリーニング方法の検討

- 単一施設横断研究—  
 .....水谷 幸嗣, 三上理沙子, 佐々木好幸, 高谷 典秀  
 太田秀二郎, 松浦 孝典, 城戸 大輔, 武田 浩平  
 向山 雄人, 須田 智也, 和泉 雄一, 岩田 隆紀 (245)

## 症例報告

## Root Canal Treatment of a Mandibular Premolar with Two Root Canals

in a Japanese Patient Using Cone-beam Computed Tomography and Surgical Microscopes

- .....YAMADA Masashi, SAKO Ryo, TAMIYA Yoshiki, ASAI Tomohiro, SANO Yosuke,  
 SEKIYA Sayo, KASAHARA Masaaki, KASAHARA Norio and FURUSAWA Masahiro (254)

## 第4号 (令和2年8月31日発行)

## 総 説

## OCTによる研究がもたらした歯の内部構造に関する新知見

- .....田上 順次, 島田 康史, SADR Alireza, 吉山 昌宏, 角 保徳 (267)

## 新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) 感染拡大に伴う歯科保存治療における予防対策

- .....飯野 由子, 砂川 光宏, 鶴岡 広美, 沖島 里恵, 高橋 祐太, 荒木 孝二 (272)

## 原 著

## マウスガードによる季節性アレルギー性鼻炎症状改善に関する研究

—スギ花粉症患者の唾液性状解析—

- .....原賀 裕, 室町幸一郎, 武藤 徳子, 鈴木 二郎  
 下島かおり, 藤巻 龍治, 宇都宮舞衣, 木庭 大槻  
 許 多, 石井 信之 (280)

*Porphyromonas gingivalis* 由来 LPS 局所投与が加齢マウスの歯周組織に及ぼす影響

- .....森永 啓嗣, 金山 圭一, 北後 光信, 安田 忠司  
 長谷川 徹, 佐藤 匠, 清水 雄太, 辰巳 順一 (287)

## A Preliminary Study on Remaining Enamel Thickness Measurement

using Time-domain Optical Coherence Tomography

- .....KUROKAWA Hiroyasu, TAKAMIZAWA Toshiki, IINO Masayoshi,  
 ARAI Yuiko, TAKAMIYA Hiroshi, WAKAMATSU Kengo,  
 YOKOYAMA Munenori, IJIMA Tatsuya and MIYAZAKI Masashi (296)

## ニッケルチタン製ロータリーファイルと手用 K ファイルの湾曲根管形成能:

未経験者による根管形成の評価

- .....牧 圭一郎, 海老原 新, 中務 太郎, 木村 俊介, 興地 隆史 (305)

## 症例報告

## セメント質剥離の2症例に対する三次元画像診断に基づいた臨床的考察

- .....柴田 直樹, 稲本 京子, 山本 弦太, 三谷 章雄, 中田 和彦 (312)

## 〔優秀症例発表賞受賞演題〕

## 治療に無関心であった広汎型重度慢性歯周炎患者に対し行動変容を促し自家骨移植および

エナメルマトリックスタンパク質を用いた歯周組織再生療法を行った1症例

- .....五十嵐 (武内) 寛子, 沼部 幸博 (320)

## Tooth Wear による機能的・審美的障害に対して直接法コンポジットレジン修復を行った1症例

- .....田代 浩史, 保坂 啓一, 田上 順次 (327)

## Periapical osteoperiostitis を伴う上顎大白歯歯根嚢胞に外科的歯内治療を行った1症例

- .....飯野 由子, 井澤 常泰, 八尾香奈子, 興地 隆史 (332)

## 第 5 号 (令和 2 年 10 月 31 日発行)

## 総 説

マイクロテンサイル法 (微小引張接着試験) について……………西谷 佳浩, 星加 知宏 (351)

## 原 著

Study on Rehardening of Demineralized Dentin with Resin-modified Pulp-capping Agents Containing MTA……………TSUTANI Kayo, YASUO Kenzo, TANIMOTO Hiroaki, YOSHIKAWA Kazushi and YAMAMOTO Kazuyo (356)

ジルコン粉末を用いた噴射研削による小窩裂溝齲蝕除去について……………堀田 正人, 瀧谷 佳晃, 河野 哲 (368)

高度テーパ加工フィラメント植毛歯ブラシヘッドの大きさの違いが人工プラーク除去に及ぼす影響……………堀田 正人, 佐野 晃, 清水翔二郎, 石樽 大嗣, 日下部修介, 二階堂 徹 (377)

## 第 3 次産業勤労者の口腔保健行動と意識

—大阪府堺市西区における 2016 年度アンケート調査—……………志倉 興紀, 志倉 敬章, 内川竜太郎, 山本 昭夫, 富田美穂子 (385)

トモシンセシス法を用いたパノラマ X 線画像における歯周組織所見の主観的および物理学的画質評価……………杉原俊太郎, 両角 俊哉, 香西 雄介, 印南 永, 泉 雅浩, 田村 利之, 櫻井 孝, 三邊 正人 (396)

Evaluation of Root Canal Wall Displacement and Working Time in Simulated Curved Root Canals Using Various Reciproc Files……………SEKIYA Miki, MAEDA Munehiro, NISHIDA Taro and IGARASHI Masaru (405)

ポリエチレングリコール鎖を有する機能性モノマー配合接着材の象牙質接着性と弾性率……………英 將生, 木村紗央里, 大川 一佳, 山本 雄嗣 (414)

pH 調整による EDTA 溶液の根管象牙質に及ぼす影響……………藤巻 龍治, 鈴木 二郎, 石井 信之 (425)

## 症例報告

〔優秀症例発表賞受賞演題〕

露髄を伴う前歯部破折症例への加圧直接覆髄処置と即日接着修復の応用……………片平 信弘, 稲井 紀通, 田上 順次 (432)

歯内-歯周治療を基本とした包括的治療症例……………冨永 尚宏, 木庭 大槻, 石井 信之 (438)

非穿孔型の広範な歯根内部吸収を認めた上顎右側中切歯の 1 症例……………大墨 竜也, 竹中 彰治, 野村由一郎 (445)

歯周組織の炎症と不妊の関連性を示唆する, ある侵襲性歯周炎患者の病態生理……………大森 一弘, 河野 隆幸, 小林 寛也, 新井 英雄, 山本 直史, 高柴 正悟 (451)

慢性根尖性歯周炎に罹患した下顎第二大臼歯槌状根に非外科処置にて対応した 1 症例……………川西 雄三, 前齒 葉月, 林 美加子 (461)

広汎型重度慢性歯周炎患者に対しリグロスを用いた歯周組織再生療法を行い, 包括的歯科治療を行った 1 症例……………須藤 瑞樹 (467)

## 第 6 号 (令和 2 年 12 月 31 日発行)

## ミニレビュー

接着性レジンの象牙質接着耐久性改良法の探求と接着破壊ダイナミクスの解明……………保坂 啓一 (479)

## 原 著

Study on the Sealing Ability of a New High-penetration Resin Material for Enamel Cracks and Dentinal Tubules……………MIURA Tatsuki, YASUO Kenzo, IWATA Naohiro, YOSHIKAWA Kazushi and YAMAMOTO Kazuyo (483)

- ユニバーサルアドヒーズのアクティブ処理およびエッチングモードが  
エナメル質接着強さおよび表面自由エネルギーに及ぼす影響  
.....今井亜理紗, 高見澤俊樹, 田村 友彦, 高宮 寛, 若松 賢吾  
辻本 暁正, 鈴木 総史, 鈴木 美穂, 宮崎 真至 (494)
- 高グルコース条件下における歯肉線維芽細胞のカルプロテクチン誘導性  
炎症関連因子の産生におけるスグチチンの抑制効果  
.....西川 泰史, 成石 浩司, 木戸 淳一, 湯本 浩通 (503)
- ニッケルチタン製ロータリーファイルのテーパーが回転疲労耐性に与える影響  
.....福森 洋平, 中務 太郎, 牧 圭一郎, 木村 俊介  
海老原 新, 興地 隆史, 杉崎 順平 (512)
- 新規汚染除去材による処理が唾液汚染されたCAD/CAM冠用ハイブリッドレジンの  
象牙質接着強さに及ぼす影響  
.....高橋 圭, 吉山 知宏, 横山 章人, 島田 康史, 吉山 昌宏 (519)
- 生物学的直接覆髄剤開発に向けた生理活性物質 RVX-208 の歯髓細胞における機能解析  
.....松本 昌大, 藤原 千春, 島袋 善夫, 山本 優, NANTAKEERATIPAT Teerachate  
北垣次郎太, 八木 寛子, 林 聡子, 岩山 智明, 柏木陽一郎  
三木 康史, 北村 正博, 沢田 啓吾, 木下 茉優, 村上 伸也 (527)
- ユニバーサルアドヒーズへの光線照射の有無が自己接着性レジンのセメントの  
歯質接着性に及ぼす影響  
.....石井 亮, 高見澤俊樹, 野尻 貴絵, 辻本 暁正  
甘利 佳之, 奥脇 岳人, 飯島 達也, 宮崎 真至 (536)
- タタキ振動を付与した音波振動歯ブラシのプラーク除去効果および  
歯周組織に対する有用性について  
.....鴨井 久博, 吉峰 正彌, 三浦 悠, 濱田真理子 (545)
- Influence of Light Irradiation Conditions on the Tensile Bond Strength of  
Resin Composite Bonding Materials to Dentin  
.....OUCHI Satoko, IWATA Naohiro, LIU Haitao, XIE Zhouqiao, WANG Xiangyu,  
MOROTO Hidetoshi, ISHIDA Shunsuke, KOMASA Reiko, YASUO Kenzo,  
TANIMOTO Hiroaki, YOSHIKAWA Kazushi and YAMAMOTO Kazuyo (554)
- 症例報告**
- インプラント周囲炎患者に対し Er : YAG レーザーを併用し外科的治療を行った症例  
.....安田 忠司, 山本 敦彦, 辰巳 順一 (563)

## ◆会 務 報 告

## 特定非営利活動法人日本歯科保存学会 2020 年度総会議事録

1. 開催日時 2020年7月30日 16:30~17:00

1. 開催場所 一般財団法人口腔保健協会 3階会議室 (東京都豊島区駒込1-43-9 駒込TSビル)

1. 正会員(社員)数 4,412名

1. 出席正会員数 1,150名

内訳 本人出席 4名, 表決委任者 1,146名

1. 議事の経過の要領及び議決の結果

上記のとおりのおり出席があったので、定款の規定により議長の選出を行ったところ、田上順次が選ばれて議長となった。

議長が、議事録署名人を選任したい旨及び次の者を指名したい旨を述べたところ、満場一致をもって承認可決されたので、議長は次の者を議事録署名人に指名した。

議事録署名人 林 美加子・横瀬敏志

第1号議案 次期理事長承認の件

議長は、上記議案を上程し、概要を説明して議決を求めたところ、全員異議なく原案通り承認可決した。

第2号議案 理事承認の件

議長は、上記議案を上程し、概要を説明して議決を求めたところ、全員異議なく原案通り承認可決した。

第3号議案 名誉会員承認の件

議長は、上記議案を上程し、概要を説明して議決を求めたところ、全員異議なく原案通り承認可決した。

第4号議案 2019年度事業報告の件

議長は、上記議案を上程し、概要を説明して議決を求めたところ、全員異議なく原案通り承認可決した。

第5号議案 2019年度決算報告の件

議長は、上記議案を上程し、財産目録、貸借対照表および収支決算書の内容につき概要を説明して議決を求めたところ、全員異議なく原案通り承認可決した。

第6号議案 2020年度事業計画の件

議長は、上記議案を上程し、概要を説明して議決を求めたところ、全員異議なく原案通り承認可決した。

第7号議案 2020年度予算案の件

議長は、上記議案を上程し、概要を説明して議決を求めたところ、全員異議なく原案通り承認可決した。

議長は、以上をもって本日の議案の審議をすべて終了した旨を述べ、17時00分閉会を宣した。

上記議事の経過の要領及び議決の結果を明確にするためこの議事録を作成し議長及び議事録署名人がこれに記名押印する。

## 日本歯科保存学雑誌投稿規程

1. この学術雑誌は、研究成果の論文発表による発信を通して、歯科保存学（保存修復学、歯内療法学、歯周病学）の発展に寄与することを目的としている。そのため、歯科保存学の基礎、臨床、教育ならびに歯科保存学を基盤とした歯科医学全般に関する論文を掲載する。
2. 論文の種類は、原著論文（独創性がある研究の成果に関するもの）、総説（歯科保存学に関する争点を整理して今後の方向性を示唆しようとするもの、あるいは既発表論文の内容をまとめて新たな概念を提唱しようとするもの）、ミニレビュー（歯科保存学に関する最近のトピックを総説形式で簡潔にまとめたもので、各賞の受賞論文を含む）、症例・臨床報告（歯科保存学領域から広く歯科医療の実践と発展に有用となる臨床の記録）などの4種に分類する。なお、総説とミニレビューは、編集委員会からの依頼によるものと投稿によるものとに分ける。
3. 原著論文および症例・臨床報告の内容は、過去に他誌に掲載されたり、現在投稿中あるいは掲載予定でないものに限る。
4. 論文の採否は、査読を経て決定する（編集委員会からの依頼によるものを除く）。
5. 投稿原稿は、日本語または英語で簡潔に記述されたものとする。
6. 原著論文の形式は、原則として和文（英文）抄録、緒言、材料および方法、結果あるいは成績、考察、結論、文献、英文（和文）抄録の順に記載する。原著論文以外の論文も、原則としてこれに準ずる。
7. 本誌の発行は、原則として2月、4月、6月、8月、10月および12月に行う。また、必要があれば増刊する。
8. 筆頭著者が会員の場合のみ、一定額の掲載料補助を行う。また、筆頭著者が会員であるが共著者に非会員が含まれる場合については、掲載料補助は行われるが非会員の人数に応じて別途負担金を求める。なお、図表・写真などの実費、発送および別刷にかかわる費用、J-STAGE 登載用データ作成代は、著者負担とする。ただし、編集委員会からの依頼によるものは除くものとする。
9. 論文投稿票は、最新のものを用い、投稿原稿に必ず添付する。
10. 受付日は、投稿原稿が学会事務局へ到着した日付とする。また、受理日は、査読担当者から採択可と判定された日付とする。
11. 掲載順序は、受理順とする。なお、採択論文の掲載証明は希望がある場合に発行する。
12. 論文投稿はE-mail 投稿または学会ホームページ等からのWeb 投稿とする。投稿原稿の送付先は、学会事務局とする。
13. 著者による校正は、原則として2校までとする。その際には、字句の著しい変更、追加、削除などは認めない。校正刷は所定の日までに必ず返却する。校正不要の場合には、その旨表紙左側に明記する。
14. 本誌掲載の著作物の著作権は、本学会に帰属するものとする。
15. この規程にない事項は、別に編集委員会で決定する。

## 附則

1. 本規程は平成6年11月10日から施行する（第38巻第1号より適用）。
  2. 本規程は平成7年10月26日から一部改正し施行する。
  3. 本規程は平成9年6月5日から一部改正し施行する。
  4. 本規程は平成11年11月17日から一部改正し施行する。
  5. 本規程は平成16年6月9日から一部改正し施行する。
  6. 本規程は平成18年11月9日から一部改正し施行する。
  7. 本規程は平成20年6月5日から一部改正し施行する。
  8. 本規程は平成21年10月28日から一部改正し施行する。
  9. 本規程は平成22年6月3日から一部改正し施行する。
  10. 本規程は平成24年6月28日から一部改正し施行する。
  11. 本規程は平成25年6月27日から一部改正し施行する。
  12. 本規程は令和2年6月25日から一部改正し施行する。
- 投稿にあたっては「投稿規程」のほか、必ず各巻の1号に掲載されている「投稿の手引き」に準拠すること。

**複写をご希望の方へ**

本学会は、本誌掲載著作物の複写複製に関する権利を学術著作権協会に委託しております。  
本誌に掲載された著作物の複写複製をご希望の方は、学術著作権協会 (<https://www.jaacc.org/>) が提供している複製利用許諾システムを通じて申請ください。  
複写以外の許諾（著作物の引用、転載、翻訳等）に関しては、直接本学会へお問い合わせください。

**Reprographic Reproduction outside Japan**

The Japanese Society of Conservative Dentistry authorized Japan Academic Association For Copyright Clearance (JAC) to license our reproduction rights of copyrighted works. If you wish to obtain permissions of these rights in the countries or regions outside Japan, please refer to the homepage of JAC (<http://www.jaacc.org/en/>) and confirm appropriate organizations to request permission.

## 編集後記

●新型コロナウイルス感染症禍が続いているために、編集委員会の協議はメールを通して行われています。個人的には、重要な協議事項がある場合は、委員の皆様はお忙しいと思いますがメールでなく集まって協議するのがいいと考えています。新型コロナウイルス感染症がいち早く終息することを祈ります。

●さて、私の編集委員会時の東京への移動手段は、東海道・山陽新幹線です。前回編集後記を担当した時は、車窓から見える一級河川について、歴史上有名な合戦を交えながら述べました。今回は、城について書きたいところですが、他学会の編集後記ですでに記載しています。それで、山について簡単に述べます。私の知るかぎり車窓から見える名山は、丹沢山、富士山、天城山、恵那山、岐阜城のある金華山、白山、御嶽山、乗鞍岳、御在所山、伊吹山、近江富士（三上山）、比叡山、生駒山および六甲山です。当然、他にもたくさんの名山があります。

●富士山は、広島から東京へ移動時、浜名湖付近、天竜川付近、富士川付近、新富士駅付近、三島駅付近、小田原駅付近、平塚市北部あたり、新横浜駅付近および都内通過時、進行方向の左側に見えます。テレビ番組のクイズに出るくらい有名なことですが、車窓の右側に見える場所があります。その場所は、静岡駅手前の安倍川付近です。日本地図を頭に浮かべ、新幹線の進路が掛川市辺りから、東北東、北東に変化することに気付けば、このクイズは簡単です。お時間があれば、焼津（日本坂トンネル）あたりから、外の風景を見ることに集中し、富士山を見てください。最近では、車窓から見える有名企業の工場がある場所を確認しております。

●菅義偉内閣総理大臣が「自助、共助、公助」、そして「絆」という社会像を目指すと言われました。この理念に対しては賛否両論がありますが、平和社会を実現するには共生社会が必要です。この理念によって、日本・世界の人々が安心・安全に生活できる、平和な社会をぜひ実現していただきたいと願っています。歯で食べ物を噛み砕くことおよび歯ごたえは、美味しく・楽しく食べることに繋がります。会員の皆様の強固な絆によって生みだされる研究成果が、日本・世界の人々の食育推進と健寿寿命の延伸に寄与することを祈ります。

(柴 秀樹 記)

## 日本歯科保存学雑誌編集委員会

委員長	中 田 和 彦 (愛知学院大学歯学部)
副委員長	前 田 英 史 (九州大学大学院歯学研究院)
	北 村 和 夫 (日本歯科大学)
	齋 藤 正 寛 (東北大学大学院歯学研究科)
	柴 秀 樹 (広島大学大学院医系科学研究科)
	新 海 航 一 (日本歯科大学新潟生命歯学部)
	平 山 聡 司 (日本大学松戸歯学部)
	村 松 敬 (東京歯科大学)
	八 重 柏 隆 (岩手医科大学歯学部)
	山 本 一 世 (大阪歯科大学)
	山 本 松 男 (昭和大学歯学部)
	湯 本 浩 通 (徳島大学大学院医歯薬学研究部)
幹 事	稲 本 京 子 (愛知学院大学歯学部)

## 編集・発行予定

号	投稿締切日	発行日
1	前年11月15日	2月末日
2	1月15日	4月末日
3	3月15日	6月末日
4	5月15日	8月末日
5	7月15日	10月末日
6	9月15日	12月末日

(50音順)

令和2年12月25日 印刷

令和2年12月31日 発行

編集兼発行者

制 作 者

印 刷 所

発 行 所

特定非営利活動法人 日本歯科保存学会理事長

田 上 順 次

一般財団法人 口腔保健協会

<http://www.kokuhoken.or.jp/>

三報社印刷株式会社

特定非営利活動法人 日本歯科保存学会  
日本歯科保存学雑誌編集委員会

〒170-0003 東京都豊島区駒込1-43-9

(一財)口腔保健協会内

電 話 03 (3947) 8891

F A X 03 (3947) 8341

## 特定非営利活動法人 日本歯科保存学会賛助会員名簿

賛助会員名	郵便番号	所在地	電話番号
アグサジャパン株式会社	540-0004	大阪府中央区玉造1-2-34	(06)6762-8022
医歯薬出版株式会社	113-8612	東京都文京区本駒込1-7-10	(03)5395-7638
イボクラールピバデント株式会社	113-0033	東京都文京区本郷1-28-24 4F	(03)6801-1303
長田電機工業株式会社	141-8517	東京都品川区西五反田5-17-5	(03)3492-7651
カボデンタルシステムズ株式会社	140-0001	東京都品川区北品川4-7-35 御殿山トラストタワー15F	(03)6866-7480
クラレノリタケデンタル株式会社	100-0004	東京都千代田区大手町1-1-3 大手センタービル	(03)6701-1730
クルツァー ジャパン株式会社	113-0033	東京都文京区本郷4-8-13 TSKビル2F	(03)5803-2151
小林製薬株式会社	567-0057	大阪府茨木市豊川1-30-3	(072)640-0117
コルテンジャパン合同会社	190-0012	東京都立川市曙町2-25-1 2F	(042)595-6945
サンメディカル株式会社	524-0044	滋賀県守山市古高町571-2	(077)582-9981
株式会社ジーシー	113-0033	東京都文京区本郷3-2-14	(03)3815-1511
株式会社松風	605-0983	京都市東山区福福上高松町11	(075)561-1112
昭和薬品化工株式会社	104-0031	東京都中央区京橋2-17-11	(03)3567-9573
スリーエムジャパン株式会社	141-8684	東京都品川区北品川6-7-29	(03)6409-3800
タカラベルモント株式会社	542-0083	大阪府中央区東心斎橋2-1-1	(06)6212-3619
デンツプライシロナ株式会社	106-0041	東京都港区麻布台1-8-10	(03)5114-1005
株式会社東洋化学研究所	173-0004	東京都板橋区板橋4-25-12	(03)3962-8811
株式会社トクヤマデンタル	110-0016	東京都台東区台東1-38-9 イトーピア清洲橋通ビル7F	(03)3835-2261
株式会社ナカニシ	322-8666	栃木県鹿沼市下日向700	(0289)64-3380
株式会社ニッシン	601-8469	京都市南区唐橋平垣町8	(075)681-5346
日本歯科薬品株式会社	750-0015	山口県下関市西入江町2番5号	(0832)22-2221
ネオ製薬工業株式会社	150-0012	東京都渋谷区広尾3-1-3	(03)3400-3768
白水貿易株式会社	532-0033	大阪府淀川区新高1-1-15	(06)6396-4455
ピヤス株式会社	132-0035	東京都江戸川区平井6-73-9	(03)3619-1441
マニーマニ株式会社	321-3231	宇都宮市清原工業団地8-3	(028)667-1811
株式会社茂久田商会	650-0047	神戸市中央区港島南町4-7-5	(078)303-8246
株式会社モリタ	564-8650	大阪府吹田市垂水町3-33-18	(06)6388-8103
株式会社モリムラ	110-0005	東京都台東区上野3-17-10	(03)3836-1871
YAMAKIN株式会社	543-0015	大阪府天王寺区真田山町3-7	(06)6761-4739
株式会社ヨシダ	110-0005	東京都台東区上野7-6-9	(03)3845-2931

(五十音順)



貴稿が日本歯科保存学雑誌の投稿規程に沿ったものであるかを確認し、1～12の項目については、必ず著者チェック欄にチェック（√印）して下さい。さらに、その項目について、所属機関の編集連絡委員のチェックを受けてから投稿して下さい。（編集連絡委員名簿は各巻3・6号に掲載しています）

なお、13～18の項目については該当する場合にチェックして下さい。

チェック 著者 編集連絡委員	チェック 編集委員会
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> 1. 保存学会 HP 掲載の最新の投稿票を用いていますか。	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> 2. 原稿（図、表を含む）は A4 サイズで作成していますか。	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> 3. 原稿は和文（英文）表紙、和文（英文）抄録、本文、文献、英文（和文）表紙、英文（和文）抄録の順になっていますか。	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> 4. 和文抄録、英文抄録には、見出しが付いていますか。	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> 5. 和文・英文各表紙の末尾に責任著者連絡先が記入してありますか。	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> 6. 和文・英文各キーワード（索引用語）を3語程度、和文抄録・英文抄録の末尾に記入してありますか。	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> 7. 表紙には、ランニングタイトルが記入してありますか。	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> 8. 原稿には通しページ番号（表紙から文献まで）が記載されていますか。	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> 9. 文献は所定の書き方で、引用順になっていますか。	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> 10. 図表にはそれぞれ番号が記入してありますか。	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> 11. 図表とその説明は英語で表記していますか。	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> 12. 投稿論文に関わる利益相反（COI）自己申告書を添付していますか。	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> 13. トレースの必要な図は、余白にその旨記載してありますか。	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> 14. カラー掲載希望の場合にはカラーデータを、モノクロ掲載希望の場合にはモノクロデータを添付していますか。	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> 15. 英文論文の場合は、ネイティブスピーカー等による英文校閲証明書を添付していますか。	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> 16. ヒトを対象とする研究について、所属機関の長もしくはその長が委託する倫理委員会等の承認を得ていますか。	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> 17. ヒトを対象とする研究について、匿名化を行うなど研究対象者個人が特定されることがないように配慮されていますか。	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> 18. ヒトを対象とする研究について、得られた資料を使用するにあたり研究対象者の承諾を得ていますか。	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>

編集連絡委員名 \_\_\_\_\_ (印)

編集委員会からのお願い：所属機関に編集連絡委員がおられない場合には、その旨明記の上、締切日に余裕をもって事務局までお送り下さい。

保険算定項目が拡大!

象牙質  
レジンコーティング **46点**  
(1歯につき)

生活歯の支台歯形面に象牙質レジンコーティング法(略称:Rコート)を行った場合、技術料として1歯につき1回に限り46点を算定

多目的光重合型1液性ボンディング材

# ジーシー G-プレミアオ ボンド

高い **接着力** に加え  
**操作性** もさらに向上

高い接着力<sup>※1</sup>

歯質との接着に

4-MET

歯質・非貴金属・  
ジルコニアとの接着に

※10- methacryloyloxydecyl  
dihydrogen phosphate

MDP

貴金属との接着に

MDTP



操作性向上<sup>※2</sup>

使えばわかる  
プッシュ!ポン!カチッ!な  
プッシュオープンキャップ

※1 全米で最も信頼されている製品調査機関「THE DENTAL ADVISOR」から最高評価「★★★★★」を獲得  
The Dental Advisor, Volume 33, No 04, May 2016

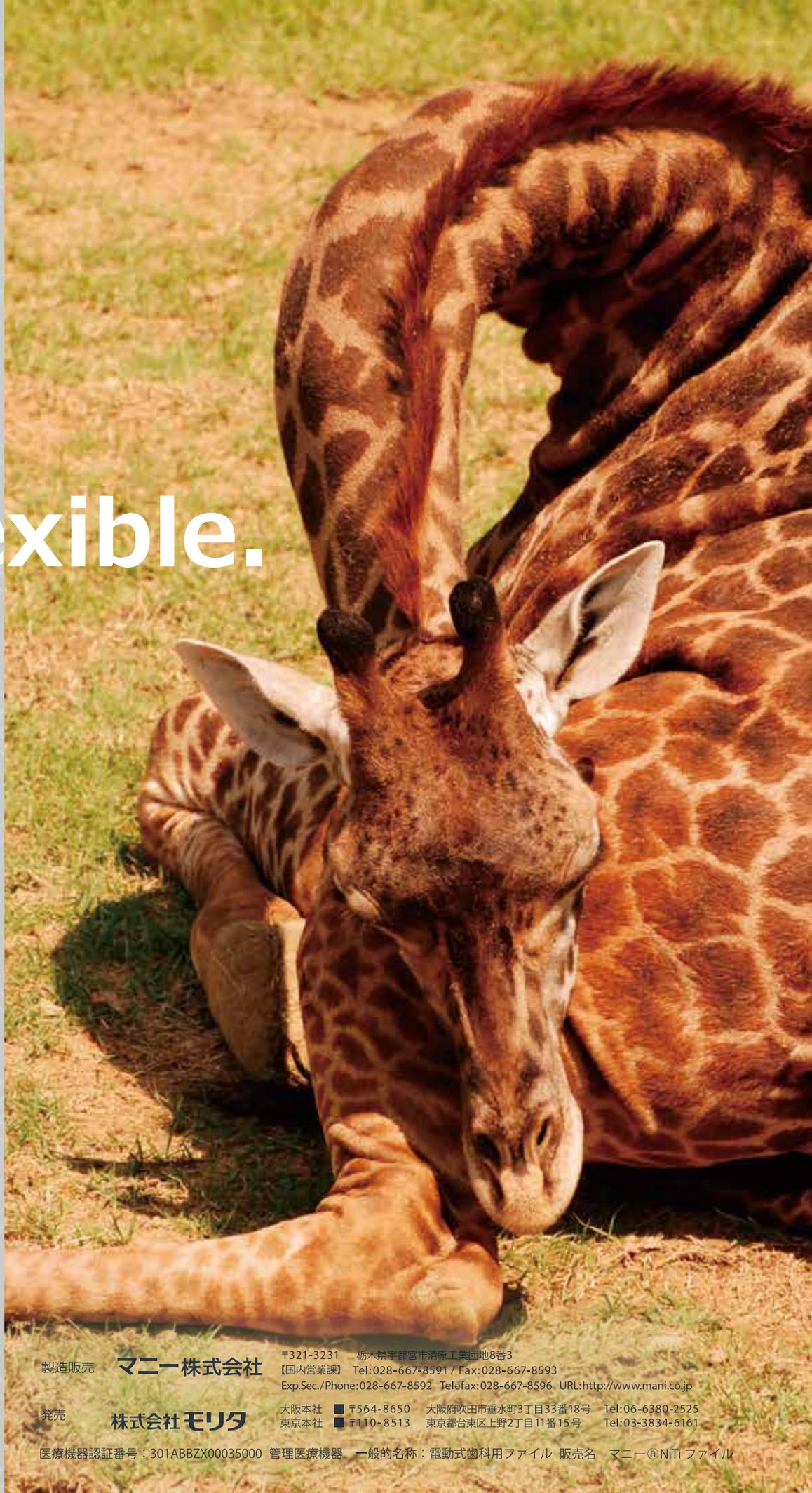
※2 2018日本パッケージングコンテスト【医薬品・医療用具包装部門賞】入賞  
『片手で簡単に開閉操作できる歯科用ボンディング材容器』

**jizai**  
—自在—

Be  
Flexible.



**MANI**®



製造販売 **マニー株式会社**

〒321-3231 栃木県宇都宮市清原工業団地8番3  
【国内営業課】 Tel:028-667-8591 / Fax:028-667-8593  
Exp.Sec./Phone:028-667-8592 Telefax:028-667-8596 URL:<http://www.mani.co.jp>

発売 **株式会社モリタ**

大阪本社 ■ 〒564-8650 大阪府吹田市垂水町3丁目33番18号 Tel:06-6380-2525  
東京本社 ■ 〒110-8513 東京都台東区上野2丁目11番15号 Tel:03-3834-6161

医療機器認証番号：301ABBZX00035000 管理医療機器 一般的名称：電動式歯科用ファイル 販売名 マニー®NiTi ファイル

歯科用多目的超音波治療器

MERSSAGE E-PICK 2in1

メルサーージュ エピック 2in1



超音波スケーラーとパウダーデバイス。

幅広いプロフェッショナルケアに対応する2つの高機能を、この1台に凝縮。

製品紹介動画はコチラ▼

標準医院価格: ¥490,000

一般的名称: 歯科用多目的超音波治療器 管理医療機器 特定保守管理医療機器 認証番号: 229ALBZX00017A01

掲載の価格は2020年12月現在の標準医院価格(消費税抜き)です。



Thinking ahead. Focused on life.



# Spaceline EX

スペースライン EXが iFデザイン賞の金賞を受賞

ドイツのiFデザイン賞は、50年以上の歴史を有し、各国から選ばれた審査員によって厳正に選考される世界的に権威のあるデザイン賞です。世界中から6,400以上のエントリーがあった中、最優秀デザインとして75件に授与される金賞（iF GOLD AWARD）をスペースライン EXが受賞しました。人間工学に基づき緻密に計算されたデザインは、患者さんだけでなく術者にも理想的で洗練されたデザインであると評価されました。



#### 発売

株式会社 **モリタ**

大阪本社 大阪府吹田市垂水町3-33-18  
〒564-8650 T 06. 6380 2525

東京本社 東京都台東区上野2-11-15  
〒110-8513 T 03. 3834 6161

お問合せ お客様相談センター 歯科医療従事者様専用  
T 0800. 222 8020 (フリーコール)

#### 製造販売・製造

株式会社 **モリタ製作所**

本社工場 京都府京都市伏見区東浜南町680  
〒612-8533 TEL 075-611-2141

久御山工場 京都府久世郡久御山町市田新珠城190  
〒613-0022 TEL 0774-43-7594

販売名: スペースライン  
一般的名称: 歯科用ユニット  
機器の分類: 管理医療機器(クラスII)  
特定保守管理医療機器  
医療機器認証番号: 228ACBZX00018000

[www.dental-plaza.com](http://www.dental-plaza.com)