

2. ボンディングシステムの違いと根管の部位が接着強さに与える影響

Influence of different bonding systems and region of root canal dentin on bond strength of resin composite

○清水 峻介, 野田 守, 武本 真治*

岩手医科大学歯学部歯科保存学講座う蝕治療学分野, 岩手医科大学医療工学講座*

【背景・目的】

根管治療した歯は根管充填後に支台築造を行い, 補綴装置が装着される. 近年, その支台築造法には直接法でのレジン支台築造が多用されている. 直接法でのレジン支台築造には, 光重合型, 化学重合型およびデュアルキュア型ボンディングシステムによる, 根管窩洞でのポストの維持が重要である. しかしながら, ボンディングシステムの重合様式と根管内象牙質の接着部位の違いが接着強さに与える影響は不明な点が多い. 本研究では, 異なるボンディングシステムと根管象牙質の接着部位の違いが接着強さに及ぼす影響を明らかにすることを目的とした.

【方法】

試料にはウシ抜去歯の歯根を用いた. 歯軸と平行に直径3mm, 深さ14mmの支台築造のための窩洞形成を行った. 窩洞を18% EDTA, 3% NaOCl, 蒸留水で十分に洗浄し, 水中に5日間37°Cで留置した. その後, 根管を十分に乾燥し, 各ボンディングシステムを各社指示にしたがって窩洞内象牙質面に作用させ, 支台築造用レジンを充填し光照射によって硬化させた. ボンディングシステム (BS) として, 光重合型 (Light:G プレミオボンド, GC, スコッチボンド™ ユニバーサルアドヒーズ, 3M), 化学重合型 (Chemical: クリアフィルニューボンド, クラレ, ボンドマーライトレス, トクヤマデンタル) およびデュアルキュア型 (Dual: ビューティーデュアルボンド EX, 松風, i-TFC ルミナスボンド, サンメディカル) を用いた. 支台築造した試料は, 水中に7日間37°Cで静置した. 試料の歯軸に対して垂直に, 厚みが1.0mmとなるように歯冠側から根尖側へと断続的に切断した. 得られた円板状試料の

レジン部位を万能材料試験機 (EZ-LX: Shimadzu) を用いてクロスヘッドスピード0.5mm/minで押し出し試験を行い, 最大荷重から接着強さを算出した. 根管接着部位 (Region) は歯冠側から根尖側を3等分し, それぞれ歯冠側をC群, 中央部をM群, 根尖側をA群とした. 得られたデータをBSとRegionを要因とする二元配置分散分析およびTukeyの多重比較により検定した ($n=24$, $\alpha=0.05$). また, 押し出し試験後の破断様式を観察し, カテゴリー1: 根管象牙質からレジンが抜けているもの (象牙質とレジンとの界面破壊), カテゴリー2: レジンが破壊しているもの (レジンの凝集破壊), カテゴリー3: 根管象牙質とレジンが一体となって破壊しているもの (象牙質とレジンの凝集破壊), カテゴリー4: 根管象牙質の破壊とレジンと根管象牙質との界面での破壊 (混合破壊) に分類した. 破断様式の割合は χ^2 検定および残差分析を行った ($n=24$, $\alpha=0.05$).

【結果】

接着強さの二元配置分散分析の結果, BSとRegionの因子間に交互作用は認められず, BS因子内でのみ有意差を認めた. C群では, Lightに対してChemicalが有意に大きい値を示した. M群では, Lightに対してChemicalおよびDualが大きい値を示した. A群では, Lightに対してChemicalおよびDualが大きい値を示した.

押し出し試験後の破断様式の割合は, M群, A群でカテゴリー1がChemicalと比較してLightで有意に大きい値を示した. また, M群でカテゴリー3がLightと比較して, Chemicalで有意に大きい値を示した. A群でカテゴリー3が, Chemical, Dualと比較してLightで有意に小さい値を示した.

【考察及びまとめ】

本研究では, 異なるボンディングシステムと根管象牙質の接着部位の違いが接着強さに及ぼす影響を調べた. その結果, LightがM群およびA群で有意に小さい接着強さであり, また, 同群で界面破壊が多く認められた. このことは, 光照射器の照射光の強度と照射距離との関係がボンディング材の硬化と関係したと考える. つまり, 本研究では14mmと深い窩洞で実験を行っているため, 照射光が中央部から根尖部に

掛けて十分に到達しなかったことによる、ボンディング材の硬化が影響したと考えられる。

接着強さの大きかった Chemical では、M群でレジンと根管象牙質の凝集破壊が有意に多く、M群、A群で界面破壊が有意に少なかった。このことは、化学重合型ではボンディング材が均一に硬化したため、レジンと根管象牙質が一体となって破断したと考えられる。

以上より、光重合型ボンディングシステム (Light) は、根管の深部で照射不足による接着不良が推測され、また、化学重合型ボンディングシステム (Chemical) は、接着強さが部位に依存せず、深い窩洞での接着に有効であることが示唆された。

3. ヒト口腔扁平上皮癌細胞 HSC-4 の上皮間葉転換におけるケモカインの作用について

Effects of chemokines on epithelial-to-mesenchymal transition of human oral squamous cell carcinoma cells HSC-4

○武田 啓, 加茂 政晴*, 石崎 明*,
宮本 郁也, 山田 浩之

岩手医科大学歯学部口腔顎顔面再建学講座
口腔外科学分野, 岩手医科大学化学
講座細胞情報科学分野*

【背景・目的】

癌細胞の悪性化において、上皮間葉転換 (EMT) は重要な役割を果たしている。我々はこれまでに、ヒト口腔扁平上皮癌 (hOSCC) 細胞において、EMT 関連転写因子の Slug 及び Sox9 は、TGF- β 1 刺激で発現が上昇し、E-cadherin などの上皮マーカーの発現を抑制し、N-cadherin などの間葉マーカーの発現を増大させて EMT を誘導することを見出している。しかしながら、hOSCC における EMT 誘導性転写因子による転移の調節機構の詳細は明らかにされていない。一方、癌組織には癌関連線維芽細胞 (cancer-associated fibroblast, CAF) や腫瘍随伴マクロファージ (tumor-associated macrophage, TAM) が共存しており、浸潤転移に関与していることが知られている。しかし、CAF や TAM が hOSCC 細胞の浸潤・転移に

どのように関わるのかについては依然不明な点が多い。そこで hOSCC 細胞が産生・分泌し、CAF や TAM との細胞間相互作用に関わると予測されるサイトカイン及びケモカインに注目して、その作用について調べた。

【方法】

hOSCC 細胞として、HSC-4 細胞株を用いた。サイトカイン及びケモカインに関与する遺伝子とタンパク質は RT-qPCR 及びウェスタンブロット法により解析した。細胞遊走能は、トランスウェルアッセイにより行った。

【結果】

サイトカイン及びケモカインの発現について、HSC-4 細胞における TGF- β 1 処理による遺伝子発現変化を、PrimerArray を用いて網羅的に調べた。その結果、CXCL14 は、TGF- β 1 処理により有意に発現が増大した。そこで、他の hOSCC 細胞株での TGF- β 1 依存的な CXCL14 の発現について調べた結果、TGF- β 1 に応答する SAS では、発現の増大を認めた。HSC-4 細胞において、CXCL14 は、24 時間以降 48 時間で有意に発現が増大した。CXCL14 は、頭頸部扁平上皮癌では、悪性度が高い癌細胞ほど発現量が低下していることが示されているが、その分子機構は明らかではない。一方、CAF の分泌する CXCL14 が乳癌細胞の EMT を惹起することが報告されている。そこで、HSC-4 細胞由来 CXCL14 のオートクリンあるいはパラクリン的な作用について、細胞遊走能、細胞増殖能や EMT に着目して調べている。

【考察及びまとめ】

HSC-4 細胞は、TGF- β 1 処理により CXCL14 を強く発現した。今後の方針として、1) CXCL14 が HSC-4 細胞の EMT にどのように影響するかについて調査を行う。2) CXCL14 のケモタキシス誘導活性について、単球 THP-1 細胞及び TAM 誘導刺激を施したマクロファージ細胞を用いて誘引作用を調べ、免疫系細胞との相互作用について調査を行う。3) これまでに、CXCL14 により活性化された CAF は口腔癌細胞以外の癌細胞の遊走性を亢進することが知られている。そこで、線維芽細胞 NIH-3T3 を CAF モデルに見立て、この NIH3T3 細胞と TGF- β 1 刺激後の HSC-4 細胞との共培養系において、HSC-4 細胞の細胞遊走能の変化について調査し、その細胞遊走能亢進