

令和元年6月4日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11544

研究課題名(和文) 歯硬組織の退行性変化の病態解明ならびに光学的診断の開発と臨床導入

研究課題名(英文) Development and clinical application of optical diagnosis and pathological analysis for regressive changes of tooth structure

研究代表者

島田 康史 (Shimada, Yasushi)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号：60282761

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：エナメル質は高い破壊靱性を示すが、亀裂を生じやすい。光干渉断層計(OCT)を用いエナメル質亀裂の3D観察を行った結果、歯種と歯の部位により亀裂の形態と頻度が異なることがわかった。

またコンポジットレジン修復のエナメル質窩縁に発生する亀裂をOCTを用いて評価した結果、亀裂の頻度は歯の部位によって異なり歯頸部に発症しやすいこと、また歯質の接着操作によって異なることがわかった。

高齢者では、臼歯隣接面の亀裂が齶蝕の発症に影響を及ぼす可能性が高い。OCTを用い、隣接面におけるエナメル質の脱灰と微小亀裂を観察し分析した結果、接触点付近に生じた微小亀裂がう蝕の発症と進行に影響する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

有歯列の高齢者では歯の亀裂や摩耗が顕在化し、予防と進行抑制に向けた対応を確立する必要がある。亀裂は位置と深さによって症状に変化がみられ、放置すると亀裂は象牙質に侵入し破折によって抜歯に至ることもある。したがって歯の亀裂の診断と予防法を確立する必要がある。

光干渉断層計(OCT)は光を用いて歯の精密な断層画像を得ることができ、放射線を用いずに小児や妊婦、高齢者の診断に安全に使用することができる。OCTを用いて歯の亀裂を観察した結果、歯の亀裂は部位によって形態や発生頻度が異なっていた。またストレスによってエナメル質に微小な亀裂が生じ、う蝕の発症と進行に影響を及ぼす可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Enamel is hardest substance but brittle and prone to crack development.

Enamel crack behavior on different areas of the teeth was evaluated using optical coherence tomography (OCT). Enamel crack behavior, in terms of crack pattern, location and direction, depended on its location on the tooth and tooth type.

Enamel cracks at enamel cavosurface margin of composite restorations were evaluated using OCT. OCT could detect enamel crack at the margins of composite restorations noninvasively. Presence and extent of enamel crack depended on the region for preparation and bonding protocol.

Interproximal contact areas of molars are susceptible to enamel cracks and dental caries in elderly people. Enamel microcracks with demineralization at proximal contact areas were evaluated using OCT.

OCT could detect the micro-crack at interproximal contact area. Enamel microcracks significantly correlated with the demineralization lesion and may act as a confounding factor for proximal caries progression.

研究分野：保存修復学

キーワード：亀裂 エナメル質 光干渉断層計 咬合

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

超高齢社会の日本では、口腔疾患の構造に変化がみられ、有歯列の高齢者では歯の亀裂や摩耗、咬耗などが顕在化している。このような従来からの齲蝕や歯周疾患とは異なった加齢に伴う病的変化は、自覚症状を伴わずに進行し、気づいた時には歯の喪失に至ることもあるため、健全な食生活による健康長寿を維持する上で、予防と進行抑制に向けた対応を確立する必要がある。臨床現場において亀裂は一見健全に見える歯に強い咬合痛や冷水痛が出現することによってはじめて存在を疑うことができるが、深部に侵入した強い症状を伴う亀裂でも正確な部位の特定は困難なことが多い。

光干渉断層計 (Optical Coherence Tomography, OCT) は、光の干渉作用を利用して生体組織の断層画像を得る技術である。特にレーザー光源の波長を変換し画像を構築する波長走査型光干渉断層計 (Swept-source OCT, SS-OCT) は、画像精度と深度に優れ、齲蝕や修復適合性の診査など、歯科臨床での応用が期待されている。本研究は SS-OCT を用い、歯硬組織の疾患内部の光学的な変化を観察し、疾患の成因の解明と適切な診断と治療の確立を目的として実施した。

2. 研究の目的

エナメル質歯冠にみられる亀裂の分析

SS-OCT を用いると、歯冠部に生じた亀裂を白線状に画像表示し、深さも正確に診断することができることが報告されている。エナメル質は生体で最も硬い組織であり、弾性率が低く、亀裂が生じやすいことが知られており、また臨床における歯冠亀裂の多くは咬合が原因であることから、咬頭接触による影響を考慮する必要がある。またエナメル質に局限した歯冠亀裂は早期発見により修復治療が可能である。SS-OCT は画像解像度と処理速度に優れ、3D 画像を容易に構築することができる。そこで SS-OCT の 3D 画像構築を利用し、歯冠亀裂の分析を目的として実験を行った。

コンポジットレジン修復周囲の亀裂の観察

接着技術の進歩により、審美的なコンポジットレジン修復の適応症は、隣接面接触点や歯頸部を含む大きな歯質の喪失を伴う症例に拡大している。しかしながらコンポジットレジン重合収縮するため、接着界面にギャップまたは接着修復窩縁部にエナメル質亀裂が生じることがある。本研究は SS-OCT を用い、コンポジットレジン修復の窩縁におけるエナメル質亀裂を観察し、窩洞の位置と選択的リン酸エッチングの影響を評価した。

隣接面エナメル質における微小亀裂と脱灰の影響

歯の隣接面エナメル質は隣在歯と接触し、他の平滑面エナメル質と比較して齲蝕リスクが高いことが知られている。咬合接触によって歯は近心傾斜して隣在歯に接触し、結果として接触点のエナメル質を摩耗と接触面積の増加を引き起こすことが知られている。一方、強固な接触圧はエナメル質の引っ張り応力の増加を生じ、弱い接触圧は食片圧入と齲蝕を発症させるリスクが高くなる。隣接面は視診によって齲蝕を診断することは困難であり、また X 線による診断も初期の齲蝕を検出することはできない。本研究では 3D SS-OCT を用いて抜去歯の隣接面エナメル質の観察を行い、接触点部付近の脱灰の様相を評価した。

3. 研究の方法

エナメル質歯冠にみられる亀裂の分析

年齢 30 歳から 55 歳の患者から、上顎、下顎の健全歯を前歯、犬歯、小臼歯、大臼歯をそれぞれ 10 本、合計 80 本収集し実験に使用した。抜去歯の歯冠部から SS-OCT による 3D 画像を撮影し、3D 画像から X、Y、Z 軸方向の断層画像を抽出し、エナメル質亀裂の発症部位ならび

に形態を観察した (Dental OCT, 吉田製作所)。前歯は咬合接触部位と非接触部位の 2 か所から 3D 画像構築を行った。臼歯では機能咬頭と非機能咬頭において 3D 画像構築を行った。

SS-OCT 画像観察後に歯冠を切断し、走査型レーザー顕微鏡 (CLSM) による観察を行い、SS-OCT 画像と比較して亀裂の確認を行った。歯種による亀裂の発症状況と咬合接触部位による影響を分類し、得られた結果を有意水準 0.05 にて統計処理を行った (Fischer Exact Test)。

コンポジットレジン修復周囲の亀裂の観察

牛切歯の歯冠中央部ならびに歯頸部に、注水下でダイヤモンドバー (#SF440) ならびにカーボランダムポイント (#SF22) を用いて直径 3mm、深さ 2mm の皿状窩洞を形成した。窩洞形成後の全ての窩洞を SS-OCT にて観察し、形成による窩縁エナメル質に亀裂が生じていないものを選択し、60 個の窩洞を用意した。歯冠中央部と歯頸部でそれぞれ無作為に 15 個の窩洞を選択し、窩縁エナメル質を 40% リン酸 (K-etchant Gel, Kuraray Noritake Dental) にて 10 秒間処理を行った。メーカー指示通りに 60 個全ての窩洞を 2 ステップのセルフエッチングプライマー接着材 (Clearfil SE Bond, Kuraray Noritake Dental) で処理し、フロアブルコンポジットレジン (Estelite Flow Quick A2 シェード, Tokuyama Dental) を一括充填し、光照射器 (Optilux 501, 550~600mW/cm², Kerr Corporation) を用い、20 秒間照射した。コンポジットレジン修復を行った窩洞の表面は注水下でシリコーンポイントを用いて研磨し、余剰な接着材およびコンポジットレジン除去した。修復を行った窩洞について、窩洞の位置 (歯冠中央部または歯頸部) ならびにエナメル質の選択的リン酸エッチング (有りまたは無し) による 4 つの群 (n = 15) を設けた。37°C 水中にて 7 日間保存した後、SS-OCT を用いて試料の 3D 画像構築を行い、得られた画像から窩洞の断層画像を抽出して観察を行い、窩縁の円周に沿ったエナメル質亀裂の有無と拡がりについて 5 段階 (0: 亀裂なし、1: 窩縁の 1/4 までの亀裂、2: 窩縁の 1/4-1/2 の亀裂、3: 窩縁の 1/2-3/4 の亀裂、4: 窩縁の 3/4 以上の亀裂) に分類し評価した。

SS-OCT 画像のエナメル質亀裂と比較するため、SS-OCT により観察されたエナメル質亀裂を有する 5 つの窩洞を各実験群から選択し、抽出した断層画像と一致するように切断面を鏡面研磨し、光学倍率×10 にて共焦点走査型レーザー顕微鏡 (CLSM) で観察した。得られた結果を有意水準 $\alpha=0.05$ にて分析した。

隣接面エナメル質における微小亀裂と脱灰の影響

矯正治療が目的で抜歯したヒト小白歯のうち、隣接面エナメル質に明らかな齲蝕病巣がみられない健全歯またはわずかな白斑病変のみられる歯 50 本を実験に使用した。まず抜去歯の隣接面について、ICDAS によるエナメル質脱灰を視診で評価し分類した。

1: 健全エナメル質。2: 初期のエナメル質脱灰変化。3: 脱灰によって明らかに変化したエナメル質。

次に中心波長 1310nm の SS-OCT (吉田製作所製) を用い、隣接面の接触点を含む最大豊隆部の 3D 画像情報を取得し、得られた 3D 画像から XYZ 軸方向の 2D 画像を抽出した。エナメル質の脱灰レベルを SS-OCT 画像から評価した。

DEM 0: 健全エナメル質。DEMI: エナメル質の表層 1/3 までの深さの初期脱灰。DEMI: エナメル質の脱灰が表層 1/3 を超え内層 1/3 には到達しない病巣。DEMIII: エナメル質の脱灰が内層 1/3 を超えて DEJ 付近に達した病巣。

また、接触点付近におけるエナメル質の微小な亀裂を 4 つのパターンに分類し評価した。Type A: 表層のスポット条 (点状) の小さな欠陥。Type B: エナメル小柱の走行に沿って生じた亀裂。Type C: エナメル小柱を横断する方向に生じた亀裂。Type D: A, B, C の混在型亀裂。Type O: 亀裂なし

OCT 画像による評価の確認として、エナメル質を切断し、切断面の走査型レーザー顕微鏡観察を行った(VK-X150)。まず、SS-OCT 観察を行った接触点付近のエナメル質を、低速回転ダイヤモンドプレードを用いて注水下にて切断し、切断面を耐水研磨紙とダイヤモンドペーストを用いて研磨した。研磨面を超音波洗浄し、走査型レーザー顕微鏡による観察を行った。

ICDAS のコード、SS-OCT の脱灰評価および亀裂パターンについて、Spearman correlation 分析を、また上顎歯と下顎歯の違いについて Kruskal Wallis および Mann Whitney U test による統計分析を、 $\alpha=0.05$ にて行った。

4. 研究成果

エナメル質歯冠にみられる亀裂の分析

SS-OCT の 3D 画像構築を用いることにより、歯冠部の亀裂を立体的に観察し評価することができた。歯冠部に発生したエナメル質亀裂は、3D 画像から次の 3 タイプに分類することができた。

タイプ 1: エナメル質表層に横断的・水平的に走る亀裂。タイプ 2: 咬合面から歯肉側にかけて垂直方向に走る亀裂。タイプ 3: タイプ 1 とタイプ 2 のハイブリッド亀裂

それぞれの亀裂タイプの抜去歯における発生頻度をみると、タイプ 1 とタイプ 3 は前歯と犬歯の咬合接触部位、臼歯の機能咬頭に多くみられ、タイプ 2 は前歯と犬歯の咬合していない部位、下顎小白歯の非機能咬頭、上顎大白歯の非機能咬頭に多くみられた。また上顎小白歯と下顎大白歯の非機能咬頭ではタイプ 2 とタイプ 3 の亀裂が同程度みられた。統計処理を行った結果、歯種と咬合接触によって亀裂タイプの発生に有意差がみられた(Fischer Exact Test, $P < 0.05$)。歯種と部位による応力の違いや、エナメル質の部位における解剖学的構造の変化が、亀裂の発症と進行に影響を与えていると推察された。

コンポジットレジン修復周囲の亀裂の観察

コンポジットレジン修復においてエナメル質窩縁に生じた亀裂は、SS-OCT 画像にて信号強度の増加した明るい線として観察することができた。歯頸部の窩洞では歯冠中央部よりも有意にエナメル質亀裂が生じ($p < 0.05$)。また選択的リン酸エッチングをエナメル質に行うと、エナメル質亀裂は有意に増加していた($p < 0.05$)。したがって、歯頸部領域は歯冠中央部よりもエナメル質の亀裂を生じやすい傾向がみられた。また歯頸部領域においてエナメル質亀裂の頻度が高いのは、リン酸エッチング後のエナメル質の脆弱化によるものと推察された。

隣接面エナメル質における微小亀裂と脱灰の影響

エナメル質の微小な亀裂は SS-OCT 画像にて輝度が上昇しており、いくつかの亀裂はエナメル質脱灰に付随してみられた。統計分析を行った結果、ICDAS のコード、SS-OCT による脱灰評価、SS-OCT の亀裂評価には有意な相関がみられた($p < 0.001$)。ICDAS コードと SS-OCT 脱灰評価は一致率が極めて高かった。

Type A の亀裂はエナメル質内部のスポット状の小さな亀裂であり、脱灰のみられないエナメル質に多くみられ、CLSM においても確認することができた。したがって、このような咬合ストレスによって生じた接触点の微小な欠陥が、エナメル質の脱灰の進行に関与している可能性が高いと思われた。

Type B のエナメル小柱に沿って生じた亀裂は、Type 1、Type 2 の脱灰に多くみられ、エナメル質の脱灰によって生じたエナメル質の崩壊と考察された。また、このような亀裂はさらに大きな亀裂として深部へ進行することがあり、注意する必要があると考えられた。

Type C のエナメル小柱を横断する亀裂は、脱灰がエナメル質内部へ侵入した場合にみられ、

脱灰によってエナメル質の機械的強度が低下し、崩壊した現象と思われた。

Type D の混在型亀裂は、エナメル質の脱灰が内層 1/3 まで到達した病変にみられ、表層エナメル質には脱灰による大きな変化がみられなくても、内部で生じているものがみられた。

これらの亀裂は、隣接面齲蝕の発症に深く関与している可能性があり、今後さらに検討する必要があると思われた。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 1 6 件)

Ei TZ, Shimada Y, Abdou A, Sadr A, Yoshiyama M, Sumi Y, Tagami J. Three-dimensional assessment of proximal contact enamel using optical coherence tomography. *Dent Mater.* 査読有 2019 Apr;35(4):e74-e82. doi: 10.1016/j.dental.2019.01.008.

Zhou Y, Shimada Y, Matin K, Sadr A, Yoshiyama M, Sumi Y, Tagami J. Assessment of root caries under wet and dry conditions using swept-source optical coherence tomography (SS-OCT). *Dent Mater J.* 査読有 2018 Nov 30;37(6):880-888. doi: 10.4012/dmj.2017-273.

Matsuura C, Shimada Y, Sadr A, Sumi Y, Tagami J. Three-dimensional diagnosis of dentin caries beneath composite restorations using swept-source optical coherence tomography. *Dent Mater J.* 査読有 2018 Jul 29;37(4):642-649. doi: 10.4012/dmj.2017-252.

Tabata T, Shimada Y, Sadr A, Tagami J, Sumi Y. Assessment of enamel cracks at adhesive cavosurface margin using three-dimensional swept-source optical coherence tomography. *J Dent.* 査読有 2017 Jun;61:28-32. doi: 10.1016/j.jdent.2017.04.005.

Segarra MS, Shimada Y, Sadr A, Sumi Y, Tagami J. Three-Dimensional Analysis of Enamel Crack Behavior Using Optical Coherence Tomography. *J Dent Res.* 査読有 2017 Mar;96(3):308-314. doi: 10.1177/0022034516680156.

Ueno T, Shimada Y, Matin K, Zhou Y, Wada I, Sadr A, Sumi Y, Tagami J. Optical analysis of enamel and dentin caries in relation to mineral density using swept-source optical coherence tomography. *J Med Imaging (Bellingham).* 査読有 2016 Jul;3(3):035507.

Dao Luong MN, Shimada Y, Turkistani A, Tagami J, Sumi Y, Sadr A. Fractography of interface after microtensile bond strength test using swept-source optical coherence tomography. *Dent Mater.* 査読有 2016 Jul;32(7):862-9. doi: 10.1016/j.dental.2016.03.019.

[学会発表] (計 1 4 件)

Shimada Y, Hosaka K, Araki K, Sadr A, Miyazaki T, Sumi Y, Tagami J, Yoshiyama M. 3D diagnosis of proximal caries using swept-source optical coherence tomography. 96th IADR General Session, London, July 25-28, 2018.

Zhou Y, Matin K, Shimada Y, Sumi Y, Tagami J. Evaluating surface pre-etched glass ionomer filler containing materials against secondary caries. 96th IADR General Session, London, July 25-28, 2018.

Shimada Y, Sadr A, Sumi Y, Tagami J, Yoshiyama M. 3D imaging of dental caries using swept-source optical coherence tomography. 日本歯科保存学会 2017 年 10 月 26,27 日 盛岡市.

Shimada Y, Hayashi J, Wada I, Aramaki O, Sadr A, Sumi Y, Tagami J. Assessment of dental caries using swept-source optical coherence tomography in vivo. 94th General Session & Exhibition of the IADR 2016.6 Soul, Korea.

Segarra M, Shimada Y, Sadr A, Sumi Y, Tagami J. 3D analysis of enamel crack using optical

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

○取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：北迫 勇一

ローマ字氏名：KITASAKO, Yuichi

所属研究機関名：東京医科歯科大学

部局名：大学院医歯学総合研究科

職名：非常勤講師

研究者番号：30361702

研究分担者氏名：高橋 礼奈

ローマ字氏名：TAKAHASHI, Rena

所属研究機関名：東京医科歯科大学

部局名：大学院医歯学総合研究科

職名：助教

研究者番号：40613609

研究分担者氏名：田上 順次

ローマ字氏名：TAGAMI, Junji

所属研究機関名：東京医科歯科大学

部局名：大学院医歯学総合研究科

職名：教授

研究者番号：50171567

(2)研究協力者

研究協力者氏名：角 保徳

ローマ字氏名：SUMI, Yasunori

研究協力者氏名：サダルアリレザ

ローマ字氏名：SADR, Alireza

研究協力者氏名：田端 倫子

ローマ字氏名：TABATA, Tomoko

研究協力者氏名：周 媛

ローマ字氏名：ZHOU, Yuan

研究協力者氏名：セガラ ミッシェル

ローマ字氏名：SEGARRA, Michelle