

令和 2 年 5 月 29 日現在

機関番号：32650

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K20462

研究課題名(和文)クラックとミネラル変化に着目したアブフラクションのメカニズム解明

研究課題名(英文)Elucidation of the mechanism of abfraction focusing on changes in cracks and minerals

研究代表者

半場 秀典(Hamba, Hidenori)

東京歯科大学・歯学部・講師

研究者番号：90634006

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：アブフラクションのメカニズムを解明するため、脱灰とマイクロクラックの進行の関係について3次元的に非破壊で観察可能なマイクロCTを用いて検討を行った。NCCLを有する小白歯を脱灰後、マイクロCTおよびSEMを用いてミネラル変化およびクラックを解析した。脱灰後、歯冠側面やCEJ下の顕著なミネラル低下が認められ、クラックの長径および幅径は有意に増加した。SEM像とマイクロCT像の同部位にクラックを観察した。これらの結果、クラックに沿って脱灰が進行することが示唆された。また、マイクロCTはクラックを非破壊で3次元解析できる点で有利であり、アブフラクション解析モデルに有用であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

エナメル質が菲薄化した歯に過度な咬合力が加わることにより、エナメル質から象牙質へ達するマイクロクラックが生じる可能性があり、臨床症状として歯の審美障害、歯の破折、歯髄疾患などを引き起こす誘因となる。非う蝕性の歯頸部欠損は咬合が関与すると考えられ、アブフラクションと呼ばれる。マイクロクラックの3次元的观察の結果から、脱灰によるエナメル質のマイクロクラック長さおよび幅の増加を認めた。このことは、脱灰が歯頸部に存在したクラックに沿って進み、CEJ付近のエナメル質の菲薄化と、咬合による歯頸部の応力集中などによって歯頸部欠損がさらに進行する可能性が考えられた。

研究成果の概要(英文)：There is complexity associated with the mechanical or chemical processes in the creation of abfraction lesions. This study aimed to analyze mineral density and micro-cracks in extracted teeth with NCCL after demineralization, using micro-CT. Premolars with NCCL were immersed in a demineralization solution. After demineralization, the specimens were scanned by micro-CT. Thin sections were then prepared for SEM examination. The changes in width of cracks in the enamel surface were measured at each time point. Micro-CT images around the CEJ showed destruction of the enamel layer after demineralization. The length and width of cracks were increased significantly after demineralization. Comparisons of the micro-CT and SEM images revealed that the lines of the cracks were at the same positions. Micro-cracks on the cervical surface of human premolars with NCCL were detected by micro-CT. Demineralization of the cervical region progressed along the micro-cracks.

研究分野：保存修復学

キーワード：アブフラクション クラック マイクロCT

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

エナメル質が菲薄化した歯に過度な咬合力が加わることにより、エナメル質から象牙質へ達するマイクロクラックが生じる可能性があり、臨床症状として歯の審美障害、歯の破折、歯髄疾患などを引き起こす誘因となる。非う蝕性の歯頸部欠損は、Non-cariou cervical lesion (以下 NCCL) として分類される。咬合が関与すると考えられる NCCL をアブフラクションと呼び、実際の荷重点から離れた位置のエナメル質と象牙質の歪みや疲労により発生すると説明されている。歯を形態的に捉えると、歯頸部にくびれが存在するため、咬頭などにかかる荷重の応力が歯頸部に集中すると推察される。また、弾性率の異なる物質が接合している場合、応力はその界面、とりわけ周辺部に集中することから、エナメル質、象牙質、セメント質が接合している歯頸部に集中しやすい。このように形態と構造のいずれの面からも歯頸部には応力が最も集中しやすく、臨床研究からもブラキシズムを有する患者に多くの NCCL が認められることが報告されている。その発生メカニズムは多様であり、多因子性の疾患と考えられている。機械的作用だけではなく、酸蝕症すなわち脱灰が強く関与しているという報告がある。歯冠に発生したマイクロクラックに着目して、脱灰後にどのようなミネラル変化が生じるかを評価することは、複合的な要因を知る上で重要であると考えられる。エナメル質のクラックの評価については、SEM 観察などによって微細な観察が行われてきたが、臨床的に問題となる数  $\mu\text{m}$  以上のマイクロクラックを対象とした報告は少ない。マイクロクラックについての検索では、2 次元的な観察は起点と終点不明瞭であるため、3 次元的な解析が必要となる。我々はマイクロ CT を使用して歯の定量的なミネラルの評価を確立してきた。アブフラクションのメカニズムを解明するために、脱灰前後の 3 次元的ミネラル評価を行い、マイクロクラックがどのように変化するかについて解析することとした。

### 2. 研究の目的

本研究では、NCCL を有する小白歯に対して、アブフラクションを想定した解析モデルを応用し、CEJ 付近の脱灰とマイクロクラックの進行との関係について、マイクロ CT を用いて解析を行った。

### 3. 研究の方法

#### (1) 試料作製

予め水中保存した NCCL を有するヒト抜去小白歯に対し、歯表面の軟組織を除去し、研磨ブラシで清掃を行った。なお、試料の選別にあたっては、イルミネーターを用いて歯頸部に大きなクラックが観察されるものを除いた。また、脱灰部を規定するため、セメントエナメル境 (CEJ) 下 1 mm 根尖方向の範囲を除く全根面にバーニッシュを塗布した。さらに撮影方向を規定するため、常温重合レジンにて試料台を作製した。

#### (2) 脱灰

脱灰面を規定した歯を人工脱灰液 (2.2 mM Ca, 2.2 mM P, 50 mM acetic acid, pH 4.5, 37 °C) 中に、7 日間および 14 日間浸漬した。

#### (3) マイクロ CT 観察

試料を試料台に固定し、エックス線マイクロ CT にて撮影を行った。撮影は脱灰 0 日、7 日、14 日後に行った。3 次元解析には、骨梁構造計測ソフトを使用し、非脱灰根面を基準に重ね合わせを行った。試料撮影時に撮影した基準濃度のミネラルファントムを用いて、得られた CT スケール値はミネラル密度に値を変換し、3 次元画像を構築した。得られた 3 次元画像から、歯冠側面の最大豊隆部の水平断面で観察されるマイクロクラックの最大長径および幅径を測定した。

#### (4) SEM 観察

脱灰 14 日後の試料をレジンに包埋し、精密低速切断機にて歯軸に沿って半切し、金蒸着後、試料表面を走査電子顕微鏡で観察した。

#### (5) 統計解析

得られたマイクロクラックの長さおよび幅について統計解析を行った ( $n = 8$ , 有意水準 5%)。

#### 4. 研究成果

マイクロ CT 撮影の結果から，すべての試料の歯頸部に複数のマイクロクラックが観察された。歯冠表層に観察されるマイクロクラックが脱灰時間の経過とともに明瞭に観察された（図1）。さらに，脱灰面全体にミネラル密度の低下が認められ，脱灰7日後，14日後と経過するにつれてエナメル質表層から象牙質の範囲にかけてミネラル密度の低下が観察された。CEJ 付近および歯頸部エナメル質直下の象牙質にミネラル密度の低下が認められた。歯冠部エナメル質においては，咬頭よりも歯頸側でミネラル密度の低下が大きく，咬頭部におけるミネラル変化は少なかった。一方，NCCL では，NCCL と冠部歯髄の中央部で周囲の健全象牙質よりも高いミネラル密度が観察された。また，脱灰後に NCCL が拡大し，歯髄方向への深さが大きくなっていることが認められた。なお小窩・裂溝部は，裂溝を中心とした脱灰が観察された。マイクロクラックについては，マイクロ CT でミネラル密度の低下が観察された部位に SEM 像でマイクロクラックが確認された（図2）。歯冠エナメル質側面の最大豊隆部に観察されたマイクロクラックの長さとは幅は，14 日後脱灰後に有意差を示した。（図3）。

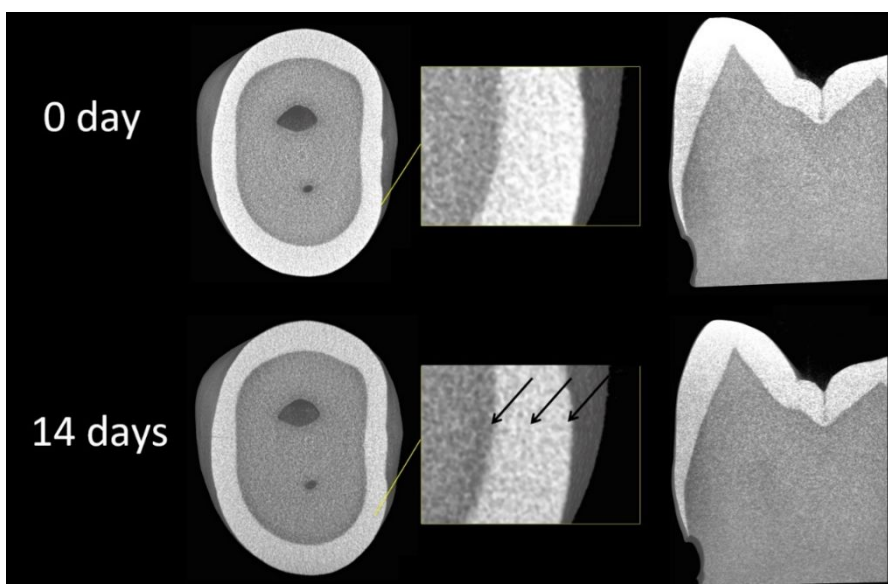


図1 2次元マイクロ CT 画像（矢印：クラック）

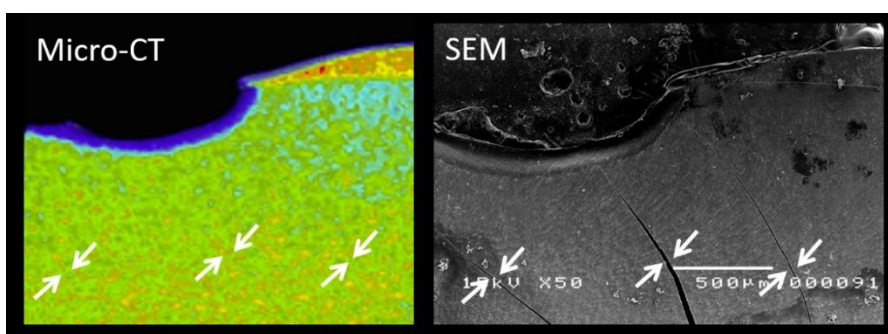


図2 NCCL 部検出クラックのマイクロ CT 像と SEM 像（矢印：クラック）

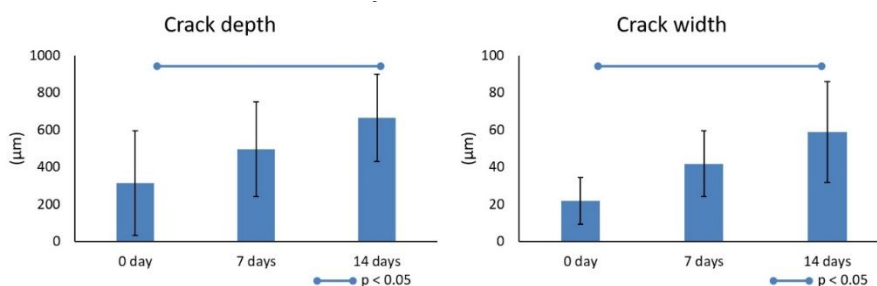


図3 平均クラック長径と幅径（脱灰0. 7, 14 日後）

## 考 察

本実験で使用したマイクロ CT は、非破壊で硬組織観察が可能である。切片作製を必要とせず、さらに包埋などによる試料の収縮などによる影響を受けないため、エナメル質に発生したマイクロクラックの観察に有利である。一方、マイクロ CT 観察においてはエックス線特有のアーティファクトが発生するため、ミネラル密度測定での定量化が難しいとされてきた。しかし、我々は適正なフィルターの利用および画像補正を行うことにより、画像に発生するアーティファクトを低減させることができることを報告してきた。また、マイクロ CT においては、撮像範囲が大きくなると、それに伴う撮影時間やデータ量が增大する。このため、本研究では、マイクロクラックとミネラル変化を解析するための適切な条件設定を行った。マイクロ CT による 3 次元観察の結果、エナメル質および象牙質にマイクロクラックの存在が観察された。2 次元画像では認識が困難なマイクロクラックの存在を 3 次元の透視画像などを得ることによって、マイクロクラックについて精度の高い測定を行うことが可能である。

本研究において、マイクロ CT による 2 次元観察を行った結果、歯のミネラル密度およびエナメル質の厚みは、歯頸部に比べて咬頭部が高く、咬頭エナメル質で高いミネラル密度分布を示した。このことから、エナメル質の厚みや発生学的な過程に伴い、咬頭側のミネラル密度が高いことが考えられ、エナメル質の部位によって耐酸性に違いがあることが分かった。また、歯質が酸の影響を受けると応力への抵抗が下がることが報告されている。本研究の結果から、エナメル質の部位による耐酸性の違いは同じ条件で酸による侵襲を受けた場合においても、咬合面よりも歯冠歯頸部に脱灰が惹起されるリスクが高いものと思われた。また、脱灰によって CEJ 付近のエナメル質のミネラル密度の著しい低下が認められた。さらに、歯頸部においてはエナメル質を回り込むように象牙質への脱灰が進行していた。このように、脱灰による影響を強く受けた歯はより応力に対して脆弱になるものと考えられる。

NCCL のマイクロ CT 観察を行った結果、NCCL 下の象牙質におけるミネラル密度は、健全象牙質に比べてより高いミネラル密度を示していた。NCCL-歯髓の中央部でミネラル密度の増加が認められ、歯髓へ向いミネラル密度が低下する現象が確認されていることは NCCL のラマン分析を行った報告と一致している。この現象についての詳細は不明であるため、詳細な分析が必要であると考えている。

マイクロクラックの 3 次元観察の結果から、脱灰によってエナメル質のマイクロクラック長径と幅径の増加を認めた。このことから、脱灰が歯頸部に存在したクラックに沿って進み、CEJ 付近のエナメル質の菲薄化と、咬合による歯頸部の歪みによってさらに NCCL が進行する可能性が考えられた。また、マイクロクラックの発生には過度な咬合力の関与が考えられるが、咬合などの単独因子によって欠損が生じるのではなく、脱灰が因子として重要であるとの報告がある。応力解析では歯頸部に応力が集中することが明らかとなっているが、実際の臨床を想定したモデルで確認することは難しい。また、原因の解明には、摩耗が因子として明らかに関与するものとの区別が必要でないかと考えている。アブフラクションの進行を解析するためには、脱灰要因と咬合要因を検討した解析が必要であると考えられた。以上より、NCCL を有する小臼歯で観察されたマイクロクラックは脱灰によって拡大し、マイクロクラックに沿って脱灰が進行することが示唆された。また、マイクロ CT 解析は 3 次元的に脱灰およびマイクロクラックを観察することができ、アブフラクションを想定した解析モデルの経時的観察に有用であることが示唆された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Bhongsatiern P, Manovilas P, Songvejkasem M, Songsiripraduboon S, Tharapiwattananon T, Techalertpaisarn P, Hamba H, Tagami J, Birkhed D, Trairatvorakul C.	4. 巻 25
2. 論文標題 Adjunctive use of fluoride rinsing and brush-on gel increased incipient caries-like lesion remineralization compared with fluoride toothpaste alone in situ.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Acta Odontol Scand.	6. 最初と最後の頁 1-7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/00016357.2019.1582796	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Sumitani Y, Hamba H, Nakamura K, Sadr A, Nikaido T, Tagami J.	4. 巻 37(4)
2. 論文標題 Micro-CT assessment of comparative radiopacity of adhesive/composite materials in a cylindrical cavity.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Dent Mater J.	6. 最初と最後の頁 634-641
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4012/dmj.2017-310	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Zan KW, Nakamura K, Hamba H, Sadr A, Nikaido T, Tagami J.	4. 巻 126(5)
2. 論文標題 Micro-computed tomography assessment of root dentin around fluoride-releasing restorations after demineralization/remineralization.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Eur J Oral Sci.	6. 最初と最後の頁 390-399
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/eos.12558	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Nakamura K, Hamba H, Nakashima S, Sadr A, Nikaido T, Oikawa M, Uo M, Tagami J.	4. 巻 36(4)
2. 論文標題 Effects of experimental pastes containing surface pre-reacted glass ionomer fillers on inhibition of enamel demineralization.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Dent Mater J	6. 最初と最後の頁 482-490
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4012/dmj.2016-303	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 半場 秀典, 中村 圭喜, 二階堂 徹, 村松 敬, 古澤 成博, 田上 順次	4. 巻 60(2)
2. 論文標題 ヒト小白歯における脱灰とマイクロクラックの進行の検討 マイクロCTを用いたアブフラクションモデルによる解析	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 日本歯科保存学雑誌	6. 最初と最後の頁 89-95
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.11471/shikahozon.60.89">https://doi.org/10.11471/shikahozon.60.89</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nantanee R, Santiwong B, Trairatvorakul C, Hamba H, Tagami J.	4. 巻 20(6)
2. 論文標題 Silver diamine fluoride and glass ionomer differentially remineralize early caries lesions, insitu.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Clinical Oral Investigating	6. 最初と最後の頁 1151-1157
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00784-015-1603-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

[学会発表] 計9件(うち招待講演 0件/うち国際学会 2件)

1. 発表者名 中村 圭喜, 半場 秀典, 石塚 久子, 村松 敬
2. 発表標題 唾液タンパク質のエナメル質再石灰化への影響を想定したカゼイン含有再石灰化液による初期エナメル質う蝕に関する検討
3. 学会等名 第151回日本歯科保存学会秋季学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hamba H, Zan KW, Nakamura K, Nikaido T, Tagami J, Muramatsu T
2. 発表標題 Mineral/Hardness Analysis of Dentin Remineralization with Fluoride-containing Caries-detector Dye Liquids
3. 学会等名 2019 IADR/AADR/CADR General Session & Exhibition, Vancouver, BC, Canada
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Obayashi S, Hamba H, Nakamura K, Zan KW, Nikaido T, Tagami J
2. 発表標題 Preventive Effect of Polymer-based Desensitizers with NaF on root dentin demineralization
3. 学会等名 2019 IADR/AADR/CADR General Session & Exhibition, Vancouver, BC, Canada (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Zan KW, Hamba H, Nikaido T, Ikeda M, Tagami J
2. 発表標題 Efficacy of Experimental Fluoride-containing Caries-detector Dye Liquids on Dentin Remineralization
3. 学会等名 2018 IADR/PER General Session (London, England) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 田宮 資己, 半場 秀典, 村松 敬, 古澤 成博
2. 発表標題 高コレステロール飼育ラットに実験的根尖性歯周炎を起こさせた際の変化
3. 学会等名 第148回日本歯科保存学会春季学術大会、横浜市
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 清水 美透, 松井 七生子, 半場 秀典, 大林 翔, マハムドサイド, 高橋 基, 二階堂 徹, 田上 順次
2. 発表標題 Micro-CTを用いたフッ化ジアンミン銀系材料の歯根面象牙質脱灰抑制効果の評価
3. 学会等名 第149回日本歯科保存学会秋季学術大会、京都市
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 半場 秀典, 中村 圭喜, 石塚 久子, 古澤 成博, 村松 敬
2. 発表標題 頸部硬組織欠損 (NCCL) を有するヒト小白歯のマイクロCT 解析
3. 学会等名 第303回東京歯科大学学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 中村 圭喜, 半場 秀典, 石塚 久子, 村松 敬
2. 発表標題 S-PRG フィラー含有ペーストのエナメル質脱灰抑制効果
3. 学会等名 第303回東京歯科大学学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 大林 翔, 半場 秀典, 中村 圭喜, カインウィン ザン, 二階堂 徹, 田上 順次 .
2. 発表標題 高濃度フッ化物配合知覚過敏抑制材が根面象牙質の脱灰抑制に及ぼす効果
3. 学会等名 第145回日本歯科保存学会秋季学術大会
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考