

令和元年5月31日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K17131

研究課題名(和文)ラット感染根管治療モデルによる高周波電磁波療法の評価

研究課題名(英文) Evaluation of high frequency electromagnetic wave therapy by rat root canal treatment model

研究代表者

米田 直道 (Yoneda, Naomichi)

大阪大学・歯学部附属病院・医員

研究者番号：80781640

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、ラット感染根管治療モデル上でおこなった高周波電磁波療法が根尖病変の体積および根管細菌量に及ぼす影響を評価した。まず、マイクロCTによる根尖病変の体積計測の結果、高周波電磁波照射群の根尖病変体積は6週間後以降根管治療群と比較して有意に減少したことが明らかとなった。次に、高周波電磁波照射直後の根管内の細菌量をリアルタイムPCRおよびATP測定にて定量した結果、どちらの評価方法においても、照射群と非照射群の間に統計学的有意差は認めなかった。以上より、高周波電磁波照射は殺菌作用以外のメカニズムにより根尖病変の治癒を促進す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

これまでラットに根尖病変を形成し、病態の進展を観察した病態モデルの報告は多く見受けられるが、その根尖病変を根管治療によって治癒させ、そのメカニズムを解析した報告は国内外ともに皆無である。ラット根管治療モデルの開発により、根尖病変と根尖孔外バイオフィームの関係を明らかにできることのほか、これまで *in vitro* でしか効果を評価できなかった様々な薬剤・治療手法を、*in vivo* によって評価することが可能となる。これによって、根尖孔外バイオフィームに対する新たな制御法の臨床応用への道が開かれるだけでなく、通常の根尖性歯周炎治療の際の制御戦略に大きく貢献することが期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, we evaluated the effect of high frequency electromagnetic wave therapy performed on the rat infected root canal treatment model on the volume of apical lesion and the amount of bacteria in the root canal. In conclusion, it was suggested that high frequency electromagnetic wave therapy accelerates healing of apical lesions by mechanisms other than bactericidal effect.

研究分野：歯内療法

キーワード：バイオフィーム 根管治療 高周波 ラット

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

1. 研究開始当初の背景

感染根管治療は歯髄腔および根管内の感染源の除去を目的として行われ、感染歯質の機械的除去および化学的洗浄が日常臨床において併用されている。これは根尖性歯周炎の原因が歯髄腔や根管内の細菌感染であるという科学的根拠に基づいている(Kakehashi *et al.*, *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 20: 340-9, 1965)。しかし、初回感染根管治療の成功率の平均値は約 73% と低い(Ng, Y. L. *et al.*, *Int Endod J*, 41: 6-31, 2008)。その理由として、根管内に細菌感染が生じると細菌は根管内でバイオフィルムを形成し、感染根管治療を行っても複雑な解剖学的形態のために根管内のバイオフィルムは完全に除去できなくなることが挙げられる。さらに、感染が進むと根管内だけではなく根尖孔外にバイオフィルムが形成されることもある。この根尖孔外バイオフィルムは、歯根破折、穿孔、側枝等と並んで根管治療の成功率を下げる原因の一つであり、申請者らのグループは、難治性根尖性歯周炎罹患抜去歯の根尖部セメント質および過剰根管充填材の表面にバイオフィルムが存在することを明らかにし、根尖性歯周炎の難治化に根尖孔外バイオフィルムが関与することを示唆した(Noiri *et al.*, *J Endod*, 28: 679-83, 2002)。また、*in vivo* でラットの歯に根尖孔外バイオフィルムを形成させることに成功し、根尖孔外バイオフィルムが根尖病変の進展に関与することを高分解能マイクロ CT を用いて明らかにした(Kuremoto *et al.*, *Appl Environ Microbiol*, 80: 3804-10, 2014)。

根尖孔外バイオフィルムの制御法を含め、新規根管治療薬・治療法の開発実験を行うためには実験動物において根管治療を行うことが必要となるが、ラットの歯に対して感染根管治療を行った報告はこれまでに存在しない。そこで、申請者はラット下顎第一臼歯に対してラバーダム防湿およびマイクロスコープ観察下での感染根管治療を行うモデルの開発を試み(図 2、3)、その結果、根尖病変体積は有意な縮小を認め、病理組織学的な治癒に至るモデルの確立に成功した(米田直道, 大阪大学学位論文, 2016)。

しかし、開発したラット感染根管治療モデルでは 4 根管の感染根管治療を行わなければならない、手技が煩雑である。また、各根の根尖病変が連続してしまうことにより複雑な病態になると、根管治療による効果の評価が困難となる。そのため、モデルをさらに単純化することが必要であると考え、感染根管治療の容易な近心根以外は根管口にて断髄を行い、近心根のみに根尖病変を形成することができれば、近心根の根管治療を行うだけで済み、評価も行いやすくなるとの着想に至った。

さらに、このモデルを用いることにより、根尖性歯周炎に対する新規治療法や治療薬の *in vivo* での評価実験が可能となる。最近では、根管治療の新しい試みとして、高周波電磁波療法の *in vitro* およびヒトでの研究が進められている(Yumoto *et al.*, *J Appl Microbiol*, 113: 181-91, 2012)。その作用機序としては根尖病変に対する治癒促進作用が示唆されているが、そのメカニズムの詳細は不明で、実験動物を用いた報告もない。改良型ラット感染根管治療モデルを用いればそのメカニズムを解明することが可能であると考えられ、新規治療法・治療薬に対する評価モデルの確立が強く望まれている。

2. 研究の目的

本研究では、まず従来のラット感染根管治療モデルの改良を行い、より簡便な作製方法で、より正確な評価を可能なものとし、改良型ラット感染根管治療モデル上で高周波電磁波療法が根尖病変治癒に及ぼす影響を検索する。

3. 研究の方法

ラット感染根管治療モデルの改良

(1) 単一根根尖病変の形成と根管治療の実施

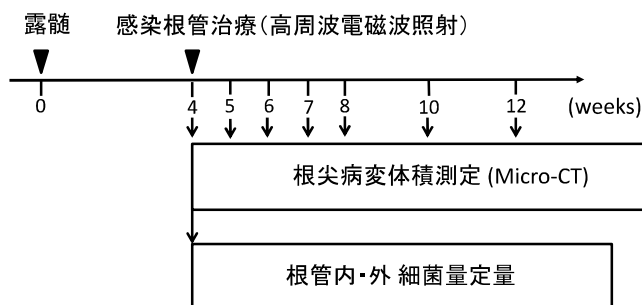


図 1. 実験スケジュール

実験スケジュールを図 1. に示す。10 週齢の雄性 Wistar 系ラットの下顎両側第一臼歯にラット用の特製クランプを用いてラバーダム防湿を行い、咬合面をラウンドバーにて髄腔開拡、天蓋除去後、冠部歯髄を除去した。ラット下顎第一臼歯は通常近心根、遠心根、頬側根、舌側根の 4 根であるが、近心根以外の 3 根の根管口に MTA セメントを置いて覆髄し、近心根の歯髄を口腔

内に曝露することによって近心根のみに根尖病変を形成させる。露髄 4 週後、下顎右側第一臼歯を被験歯として、ラバーダム防湿下で近心根のみ根管治療を行った。歯冠部の感染歯質をラウンドバーで除去後 K ファイルと電氣的根管長測定器を用いて根管長を測定し、作業長を決定した後、最終拡大号数 #25 まで根管拡大を行い、ニッケルチタンロータリーファイルを用いて #25、テーパー 4% で根管形成を行った。根管形成後、次亜塩素酸ナトリウムによる根管洗浄を行い根管内バキュームおよびペーパーポイントにて根管内を乾燥させた。根管内にシーラーを塗布後、根管内にメインポイントを挿入し、単一ポイント法で根管充填をした。根管充填後、歯面処理を行いフロアブルコンポジットレジンにて窩洞を封鎖した。下顎左側第一臼歯は根管治療を行わない対照群とした。すべての処置は手術用マイクロスコープ観察下で行った。

(2) 根尖病変治癒過程の三次元的評価

(1) 項の露髄後 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12 週にマイクロ CT を撮影後、三次元画像解析ソフト (TRI/3D-BON, RATOC) を用いて近心根根尖病變の体積を計測した。ラット同一個体における根管治療の有無による根尖病變体積の経時的な変化について評価した。

高周波電磁波療法の根尖病變治癒に及ぼす影響の評価

(3) 高周波電磁波療法を併用した根管治療の実施

前述(1)項と同様に、ラットの下顎第一臼歯の近心根のみに実験的根尖病變を形成した。露髄 4 週後に下顎右側第一臼歯を被験歯として、ラバーダム防湿下で根管治療後、高周波電磁波を近心根根管内および根尖孔外に照射した。左側は根管治療のみを行う対照群とした。根管治療後の窩洞はフロアブルコンポジットレジンにて封鎖した。

(4) 高周波電磁波療法の併用による根尖病變治癒過程の細菌学的・三次元的評価

上記(3)項の露髄後 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12 週にマイクロ CT を撮影後、三次元画像解析ソフトを用いて近心根根尖病變の体積を計測し、ラット同一個体での高周波電磁波療法の有無による根尖病變体積の経時的な変化を評価した。さらに、高周波電磁波照射直後の根管内の細菌量をリアルタイム PCR にて定量し、高周波電磁波が直接細菌量に与える影響を非照射群と比較検討することにより評価した。

4. 研究成果

(1) 単一根病變モデルにおける根尖病變体積の経時的変化

単一根病變モデルの全時点において、治療群と対照群の近心根根尖病變体積の間に統計学的有意差は認められなかった。モデルの単純化を図るために、本モデルでの検討を行うことを計画したが、従来のモデルに対して対象群の根尖病變が増大せず、比較評価に用いることができないため、以下の実験では従来モデルを使用した。

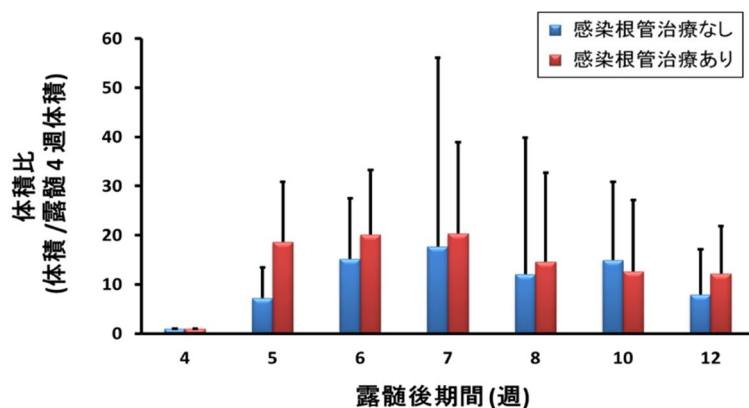


図 2. 単一根病變モデルにおける根尖病變体積

(2) 根尖病變体積の経時的変化

近心根の根尖病變の体積は、対照群と比較し、高周波照射群と通常根管治療群は有意に減少した。さらに、高周波照射群は通常根管治療群と比較して、根管治療後 6 週以降は病變体積が有意に縮小した。また、根管治療後 1 週ごとの根尖病變体積の縮小率を算出した結果では、根管治療後 2 週から 3 週の根尖病變の縮小率は、通常根管治療群と比較して、高周波照射群で有意に増加した。

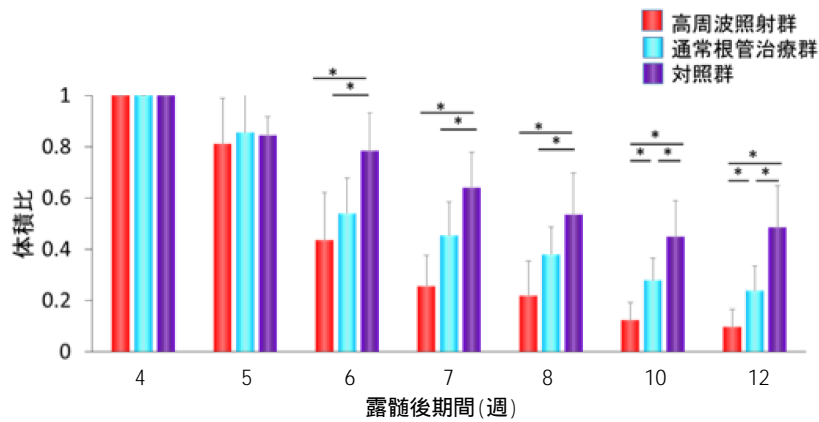


図 3. 高周波照射後の根尖病変体積変化

(3) 根管内総細菌数と生細菌数の定量解析

根管内の生細菌数及び総細菌数は、対照群と比較すると高周波照射群と通常根管治療群では有意に減少したが、高周波照射群と通常根管治療群間に有意差は認めなかった。

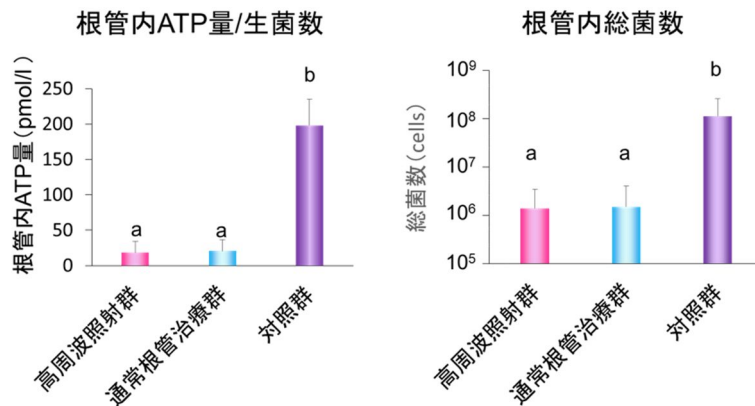


図 4. 高周波電磁波照射後の根管内細菌数

以上より、高周波電磁波照射は殺菌作用以外のメカニズムにより根尖病変の治癒を促進することが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Yoneda N, Noiri Y, Matsui S, Kuremoto K, Maezono H, Ishimoto T, Nakano T, Ebisu S, Hayashi M. Development of a root canal treatment model in the rat. Sci Rep. 2017 Jun 12; 7(1): 3315. doi: 10.1038/s41598-017-03628-6. 査読有り.

〔学会発表〕(計 2 件)

Matsui S, Maezono H, Kuremoto K, Yoneda N, Ebisu S, Yumoto H, Ishimoto T, Nakano T, Noiri Y, Hayashi M. High-frequency waves promote periapical healing by inducing cell growth factors, 96th IADR General Session & Exhibition, London, UK, 2018

松井沙織、前園葉月、呉本勝隆、米田直道、恵比須繁之、湯本浩通、的場一成、石本卓也、中野貴由、野村由一郎、林美加子：ラット根管治療モデルを用いた高周波根尖療法の評価。第149回日本歯科保存学会秋季学術大会、2018年11月2日、京都

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。