

令和 4 年 6 月 20 日現在

機関番号：32703

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K17267

研究課題名(和文) 根未完成歯の硬組織誘導を目的とした新規治療法開発 覆髄剤と低出力パルスの併用

研究課題名(英文) Development of a new treatment method for induction of hard tissue in immature teeth : Combined use of a pulp capping material and LIPUS

研究代表者

藤田 茉衣子 (FUJITA, MAIKO)

神奈川県立歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：20784797

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：根未完成歯の偶発的露髄を来した場合には、露髄面に被蓋硬組織形成を促し、正常な歯根完成を期待すべきである。

イオン徐放性を特徴としたPRGフィラー含有材料(PRGセメント)の硬組織誘導能を検討することを目的として、PRGセメントはイヌ根未完成歯において有意に被蓋硬組織の形成をしていた。低出力超音波パルス(LIPUS)は一般的な骨折治療の用いられる有効な治療手段である。イヌ歯髄細胞を用いて、照射を臨床と全く同じ条件で行ったところ、細胞増殖促進が認められた。

PRGセメントとLIPUS照射を併用することで、被蓋硬組織を誘導、さらに歯根を正常な状態で誘導させる可能性が高く示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

学童期に多発する外傷において、特に根未完成歯の偶発的露髄を来した場合には、被蓋硬組織を誘導し、正常に近い状態で歯根完成を誘導させることが治療の成功において最重要である。

イオン徐放性を特徴としたPRGフィラー含有材料(PRGセメント)と骨折治療に使用される低出力超音波パルス(LIPUS)照射による刺激を併用し、歯根未完成歯における新たな治療方法の開発を試みた。非侵襲的歯根再生療法という画期的な治療方法の確立を目標とするものである。

研究成果の概要(英文)：In case of accidental dental pulp exposure in immature tooth, the formation of hard tissue on the pulp exposure surface should be induced and normal root formation should be expected.

The purpose of this study was to investigate the hard tissue induction ability of PRG filler-containing material (PRG cement) characterized by ion sustained release. PRG cement significantly formed hard tissue in immature tooth. Low Intensity Pulsed Ultra Sound (LIPUS) is an effective therapeutic tool used in general fracture treatment. Using canine dental pulp cells, irradiation was performed under exactly the same conditions as in clinical practice, and cell proliferation promotion was observed.

The combination of PRG cementation and LIPUS irradiation showed a high potential for inducing capsular hard tissue and also inducing normal root formation.

研究分野：小児歯科学

キーワード：歯根未完成 被蓋硬組織 S-PRG LIPUS

1. 研究開始当初の背景

外傷は上顎前歯部に多く、特に学童期においては歯根未完成歯の場合が多い。損傷が歯髄に及ぶ場合、生活歯髄切断法やアペキソゲネーシスやアペキシフィケーションといった処置により断髄面に硬組織新生を促し、さらには正常な歯根完成を促さなくてはならない。

現在使用されている覆髄材は、主に水酸化カルシウム製剤と Mineral trioxide aggregate(MTA)の2種類である。水酸化カルシウム製剤は高いpHにより、抗菌効果を示すが、細胞毒性が強いことが報告されている。MTAは良好な封鎖性、抗菌性、生体適合性、硬組織誘導能を有することが報告されているが、操作性と保険適応外のため高価なことが難点である。

また最近、新規材料として PRG フィラー含有材料に関しても着目されている。PRG フィラー含有材料は様々なイオン徐放性を特徴としており、これまで申請者は、PRG フィラー含有材料について研究を行い、歯髄細胞に対して増殖促進的な効果、さらには歯髄細胞由来の象牙芽細胞様細胞分化を極めて強力に促進することを明らかにした。この報告は、PRG フィラー含有材料が直接歯髄に有用な働きかけを誘導するものとして、初めての知見である。

いずれにせよ歯根未完成の外傷歯に対する治療の成功は、手技的な要素と薬剤の選択で決まってしまうのが現状である。

2. 研究の目的

低出力超音波パルス(LIPUS)照射は骨芽細胞の機能・前駆細胞の分化を促進し硬組織の治癒・再生を促進することが知られており、整形外科分野において既に一般的な、骨折治癒に対する有効な治療手段である(1998年来健康保険適用)。骨芽細胞機能を促進するLIPUSは、骨芽細胞に近似する象牙芽細胞やセメント芽細胞といった歯根形成誘導に必須な細胞にも有効であることが予想される。

本研究では覆髄材とLIPUS照射を併用した新しい治療法の開発を試みる。これまでの自他の結果から、各種覆髄材とLIPUSの併用は歯根形成に重要な細胞を外傷部位に誘導および活性化し、歯根完成を促進すると期待できる。さらに、LIPUSは完全に非侵襲的な治療法であり頬外からの照射自体に痛みは全くなく、むしろ疼痛緩和効果が知られている。従って、学童期の患児にも応用できるものである。

覆髄材の化学的な作用に加えて非侵襲的な機械的刺激を負荷することで、歯根形成を正常に誘導する新しい治療法として、歯科における新しい治療法の一分野を確立する可能性が十分にある。

3. 研究の方法

(1) イヌの歯根未完成歯を用いて、硬組織誘導能と歯根形成誘導能の解析を行う。

動物実験

生後24週齢のビーグル犬2匹(雄、約6kg、同腹仔)を実験に供した。左右下顎骨のP3、P4およびM1にターピンでエナメル質を除去後、生理食塩液注水下で滅菌ラウンドバーにて歯髄腔へ穿孔し露髄させた。露髄面の止血を確認後、それぞれPRGセメント、水酸化カルシウム(ダイカル®:DY)、コントロール(水硬性セメント:CTL)を用いて直接覆髄法を施し、コンポジットレジンにて充填した。(図1)本研究は動物実験倫理委員会の承認(20-H053)を得て行われた。

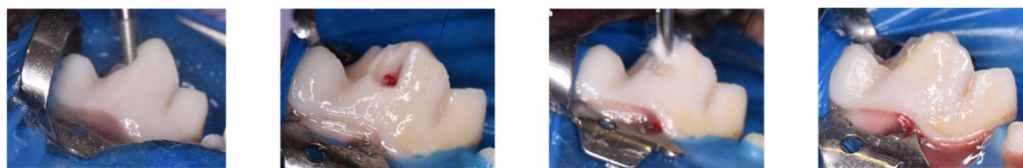


図1 生活歯髄切断法

エックス線画像撮影

処置前、処置後、処置14日後、標本採取時(24日後)に、経時的変化を観察するため右下顎骨のP3、P4およびM1の撮影を行った。

マイクロCT撮影

術後24日目に標本を採取し、マイクロCT撮影を行った。被蓋硬組織の形成量をImageJを用いて計測した。

(2) イヌの歯髄細胞を用いて、LIPUSに対する刺激応答の解析を行う。

イヌ歯髄細胞を播種し、培養6日目に石灰化誘導培地に交換、帝人(株)より貸与された細胞照射用のLIPUS装置を用い一定の時間に20分間の照射を臨床と全く同じ条件で行った。

増殖効果は、既報の通りによりMTT試験(Cayman Chemical)、石灰化分化マーカーであるアルカリフォスファターゼ(ALP)の発現を解析するため、RT-PCRを行った。

4. 研究成果

(1) イヌ歯根未完成歯における硬組織誘導能と歯根形成誘導能の解析

エックス線画像撮影では、PRG セメント、DY、CTL 全てにおいて処置 2 週間後、標本採取時で根尖部に透過像といった異常は認められなかった (図 2)。

また、肉眼的には被蓋硬組織の形成は確認することはできなかったが、マイクロ CT 撮影による硬組織形成の観察では、PRG セメントが他に対して有意な形成を示していた。

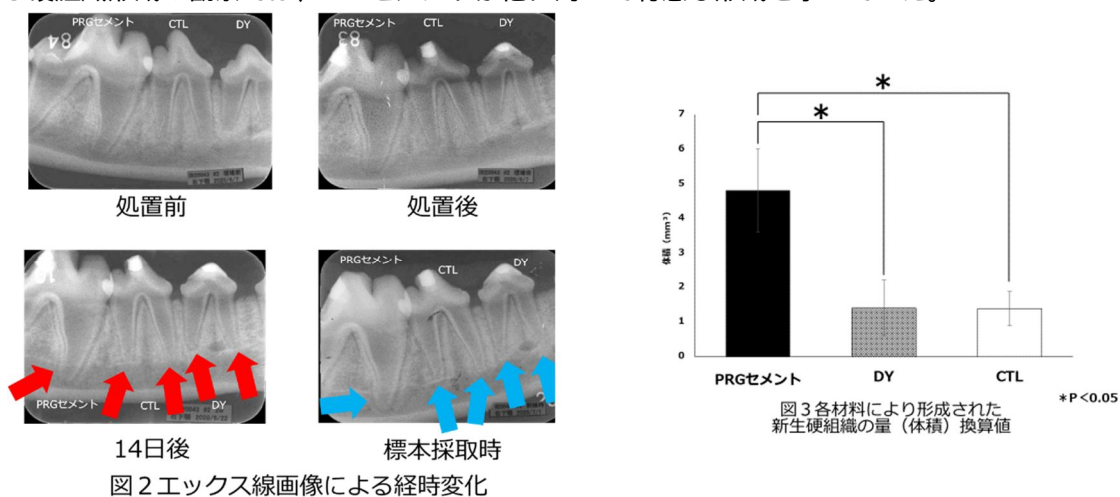


図 2 エックス線画像による経時変化

(2) イヌの歯髓細胞を用いた LIPUS に対する刺激応答の解析

MTT 試験において LIPUS 非照射群は、7 日まで細胞増殖が認められた。LIPUS 照射群は、非照射群と比較し、細胞増殖の促進的な傾向が認められた。また、RT-PCR では ALP の発現が培養初期は現象が見られたが、2 週間の長期培養では発現が増加していた。

< 引用文献 >

- ・ I Widjiastuti et al. The cytotoxicity test of calcium hydroxide, propolis, and calcium hydroxide-propolis combination in human pulp fibroblast. J Adv Pharm Technol Res. 2020;11(1):20-24.
- ・ M Torabinejad et al. Clinical applications of mineral trioxide aggregate. J Endod. 1999 Mar;25(3):197-205
- ・ K Hidaka et al. Humoral response to therapeutic low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS) treatment of rat maxillary socket after the removal of a molar tooth. J Anal Bio-Sci. 2015;3(1):17-24.
- ・ M Fujita et al. Effects of pre-reacted glass-ionomer cement on the viability and odontogenic differentiation of human dental pulp cells derived from deciduous teeth. Ped Dent J. 2016;26(2):74-82.
- ・ Q Gao et al. Ultrasound Stimulation of Different Dental Stem Cell Populations: Role of Mitogen-activated Protein Kinase Signaling. J Endod. 2016 Mar;42(3):425-31

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 藤田茉衣子, 中村州臣, 日高恒輝, 中島知佳子, 浅里仁, 関あずさ, 高垣裕子, 木本茂成.
2. 発表標題 イヌ根未完成歯におけるS-PRGフィラー含有材料を用いた硬組織誘導能の評価
3. 学会等名 日本小児歯科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤田茉衣子, 川股亮太, 高垣裕子.
2. 発表標題 イヌ歯根未完成歯の処置において、異なる材料を用いた覆髄後に形成される被蓋硬組織の比較
3. 学会等名 日本骨形態計測学会
4. 発表年 2021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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------