

令和 4 年 5 月 23 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K19018

研究課題名(和文) 脱落歯のウルトラファインバブル水浸漬による治癒促進効果

研究課題名(英文) Healing promotion in dislocated teeth treatment with ultra fine bubble water

研究代表者

大石 敦之(Oishi, Atsushi)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・助教

研究者番号：50645166

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)：脱臼・脱落した歯に生じる経過不良が歯髄や歯周組織の循環障害に起因するとの仮定の下、In vitro、In vivoにおける歯の外傷歯モデルの作製と、その新規保存的治療法の探索として、ウルトラファインバブル水の応用可能性の検証を目指した。本研究では、循環障害による酸素欠乏に着目し、低酸素環境による細胞死や組織傷害の条件設定を策定したが、十分に歯の外傷による循環障害を模倣した病態モデルの作製には至らなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歯の脱臼、脱落は、受傷後に歯髄壊死や進行性の歯根吸収、アンキロシス等を合併し、歯髄の喪失や、歯の喪失に発展しうる深刻な歯の外傷である。今日の技術では、これらの合併症の発症予知は難しく、また、患歯の治癒を促し合併症を予防する保存的治療法も存在しない。

よって、脱臼・脱落歯の歯髄や歯の経過の予知性の向上や、抜髄や抜歯に頼らず保存的に患歯の治癒を促す治療法が求められており、本研究はそれに挑むものであった。本研究は、酸素分圧の観点から経過不良が起きる条件を探索し、その病態モデルの作製に貢献した。

研究成果の概要(英文)：Based on the assumption that the poor prognosis of dislocated teeth is caused by circulatory disturbance in the pulp and periodontal tissues, we aimed to create a traumatized tooth model both in vitro and in vivo, and to verify the applicability of ultrafine bubble water as a novel conservative treatment method for such teeth. In this study, we focused on oxygen deprivation due to circulatory disturbance, and formulated a set of conditions for cell death and tissue injury caused by hypoxia, but were unable to create a pathological model that sufficiently mimics circulatory disturbance caused by tooth trauma.

研究分野：小児歯科

キーワード：創傷治癒 歯の外傷 ウルトラファインバブル 循環障害 低酸素

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

歯の外傷は小児や若年者に比較的多く見られ、若年で歯を喪失する主な原因である。成人の場合、保存困難な受傷歯を抜歯してインプラントやブリッジ、義歯などによる補綴治療を選択する事例も多く見受けられるが、成長発育期にある小児への補綴介入には制限があり、若年者への補綴治療には非常に長期におよぶ良好な予後が要求されるため、抜髄・抜歯・補綴に頼らない新たな保存的治療法が求められている。

特に歯の脱臼後に生じる歯髄変性(壊死)や歯根吸収等の合併症は、受傷後数か月を経て確定診断に至る事例が多く、受傷直後の発症予測は困難で、予防的な治療は不可能とされている。現在、外傷に起因する歯髄壊死や歯根吸収に対する治療として根管治療が行われているが、適切な処置がなされても、失活による歯の機械的強度の低下は避けられず、歯髄の知覚は回復できない。特に小児の永久歯は、根が未完成かつ菲薄であるため、根管治療や、その後の補綴治療に困難を伴う場合が多く、長期的には歯根破折が生じて保存不可になるリスクが高い。したがって、特に若年者を対象に受傷歯の治療を促進し、かつ合併症を抑制する治療法の開発が望まれているが、その病態モデルは未だ確立されていない。

一方、ウルトラファインバブル(UFB)水とは直径 $1\mu\text{m}$ 未満の微小気泡を含有した水のこと、UFBには気体の飽和溶解度を超えて水に含有させることが可能である等の物理化学的な特性が明らかにされている。当方では、UFB水の生物への作用として、成長促進や生存率の向上効果が報告されていた点に着目し、当方の先行研究で扱っていた外傷歯の病態モデルの改良と、UFB水の外傷歯治療への応用可能性の検証を策定するに至った。

2. 研究の目的

本研究の目的は、当初は歯の脱落・再植後に遅発性の歯髄変性と、歯根吸収が生じる病態モデルラットに対して酸素 UFB 水の投与を行い、その治療効果を検証することであった。しかし、InVivoの実験では、実験の実施から結果を得て成果が得られるまでに必要な期間が非常に長くなることが予測され、助成期間中での研究成果の獲得は難しい恐れが強いことが明らかになったため、並行して In Vitro において、脱落・再植歯を模倣した実験系を作製し、酸素 UFB 水を用いる実験を策定することになった。

3. 研究の方法

InVivo における実験では、ラット上顎臼歯の遅延型の再植モデルを用いて、受傷歯の経過不良の作製を試みた。具体的な方法は下記のとおりである。

4週齢のCrIj:WIラットを全身麻酔し、1匹ごと上顎両側第一大臼歯を脱臼用のプライヤーに保定する。実験群には、プライヤーのハンドルに一定の加重負荷を一定時間作用させ、左右の臼歯を挟んだプライヤーが閉まる作用で上顎左側第一大臼歯を脱臼させ、抜歯する。もし、以上の条件で上顎左側第一大臼歯の脱臼が奏功しない場合や、プライヤーの反作用で上顎右側臼歯や口蓋に損傷を認めた場合は、別のプライヤーで上顎左側第一大臼歯のみを把持し、愛護的に上顎左側第一大臼歯を脱臼させ、抜歯を行う。抜去した上顎左側第一大臼歯は規定時間を室温、シャーレ内で待機後、抜歯窩へ再植させ、接着性レジンで隣接歯と固定する。コントロール群はプライヤーに上顎臼歯の保定作業のみを行い、加重負荷は与えずに待機する。

実験群、コントロール群ともに以上の処置後、マイクロCTで患部を撮影する。1週間後に全身麻酔下でマイクロCTを撮影する。抜歯・再植処置から2週間後に安楽死させ、上顎骨ごと患歯を摘出する。

摘出した上顎骨ごとマイクロCTで撮影した後、病理組織切片を作製し、患歯と歯周組織の修復と変性の状態を記録し、以上で得られた所見を InVivo における脱落・再植歯の病態モデルと扱う。

酸素 UFB は上記の病態モデルにおける、脱落から再植までの間、酸素 UFB を含有させた HBBS 溶液に浸漬させ、マイクロCTや病理組織切片により患歯と歯周組織の変性の状態を評価する。

InVitro における実験では、脱落歯が置かれた状態を循環系が遮断され、酸素供給が断たれた状態と仮定し、低酸素環境における歯髄や歯周組織の培養細胞の挙動を観察することで、InVitro における脱落歯を模倣したモデルと考えた。低酸素培養系における細胞の増殖能、生存率(致死率)、発現タンパク、遺伝子などの解析を行う。

4. 研究成果

本研究は、研究期間初年度こそ順調に実験準備を進められたが、現状の研究（業務）環境では研究実施から研究成果が得られるまでにより長期間を要する見通しが明らかになり、実験計画に平行して InVitro での実験を追加した。加えて、2020 年 4 月より新型コロナウイルス感染症による緊急事態宣言のため、約 3 ヶ月間に渡って研究活動の停止を余儀なくされた。また、同年 5 月より部局責任者が変わったため、実験施設の大幅な改修作業を要し、これに伴い実験計画の見直しを行ったところ、InVivo での実験は新型コロナウイルス感染症対策が優先される社会情勢下において、実施が難しい恐れが想定されたため、InVitro での実験を優先させることになった。なお、InVivo での実験は不定期に緊急事態宣言の発令があり、実験施設の使用に都度制限が生じるため、実行が困難だった。InVitro の実験では、循環障害に伴う低酸素による経過不良を模倣するため、低酸素環境における口腔組織の挙動を正確に把握する必要があった。関連の先行研究を参考に低酸素分圧における口腔由来細胞の増殖や生存性の調査を行った。先行報告において、口腔由来細胞の多くに低酸素分圧下における増殖の亢進が報告されていたが、本研究において、マウス歯髄由来細胞（MDP）、ヒト歯肉由来線維芽細胞（HGF）、ヒト過剰歯由来歯小嚢細胞（DFC）に対し、同様の調査を行ったところ、酸素分圧が 10%、1%と低くなる程、増殖の抑制傾向を認め（未発表情報）、先行研究の報告とは異なる結果が出る機序について、細胞の増殖や生存性が、酸素環境だけでなく、細胞の株化の程度や、由来の器官等の様々な要素によって、変化を示している可能性が示唆されたが、我々の得られた所見においては、一定の結論を得ることが難しかったため、論文投稿や学会発表における成果の公表には至らなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
研究協力者	荒川 真一 (Arakawa Shinichi) (20302888)	東京医科歯科大学・生涯口腔保健衛生学分野・教授 (12602)	

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