

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 31 日現在

機関番号：30110

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2011

課題番号：21791861

研究課題名（和文） 象牙質再生のための *in vitro* 覆髄モデルの構築

研究課題名（英文） Study of pulp capping model for dentin regeneration

研究代表者

半田 慶介 (HANDA KEISUKE)

北海道医療大学・歯学部・講師

研究者番号：40433429

研究成果の概要（和文）：

覆髄の効果を判定するため、ラット大白歯に対して人工露髄面を形成し、高周波ラジオ波メスによって止血を行い、修復象牙質形成を調べた。通常の止血法による止血と高周波ラジオ波メスによる止血を比較検討したところ、良質な修復象牙質形成が観察され、歯髄の炎症性反応は少なかった。また、規格化された露髄径が修復象牙質形成にどのような影響があるかを検討した。30号のKファイルによって拡大された露髄径では良質な修復象牙質が形成されたが、50号以上の拡大ではトンネル状欠損を有する修復象牙質の形成が観察された。これらの結果から、止血状態や露髄径の大きさは、良質な象牙質再生および歯髄の炎症に影響を与えることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

To evaluate the hemostasis and reparative dentin induction by the high frequency radio wave generator, we made exposed pulp artificially in maxillary first molar in rat. Compared the cotton pellet moisture with Sodium hypochloride by gentle pressure with high frequency radio wave generator, high frequency radio wave produced reparative dentin having high quality. And also we tried to examine the effect to the reparative dentin formation exposure by using K files. Pulp expanded by No.30 K file has showed good quality of reparative dentin formation, however by over No.50 K file was formed low quality reparative dentin formation with tunnel like defect. In these results, indicated that the hemostasis condition or exposure area can affect to the dentin regeneration and inflammation of the pulp.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：保存治療系歯学

キーワード：修復象牙質、直接覆髄法、高周波ラジオ波メス、水酸化カルシウム製剤

## 1. 研究開始当初の背景

日常的に軟化象牙質除去時や生活歯の支台形成時など直接覆髓を試みる症例は少なくない。この際水酸化カルシウム製剤を用いて象牙芽細胞による新生被蓋硬組織形成を促すが、その形成をコントロールすることは不可能である。さらに水酸化カルシウム製剤による覆髓法によって形成される修復象牙質は、裂隙や欠損を伴う不完全な修復象牙質であり、再感染によって歯髄壊死を招く可能性がある。そこで本申請では、*in vitro*での覆髓法の効果を判定するため、ラット大白歯に対して人工露髓面を形成し、高周波ラジオ波メスによって止血を行い、修復象牙質形成を調べた。また、新規直接覆髓剤の評価のためには、統一した実験モデルの作製が重要である。そこで露髓径の大きさを規格化し、露髓径が修復象牙質形成にどのような影響があるかを検討した。

## 2. 研究の目的

覆髓法の効果を判定する研究モデルの開発を実験目的とし、(1)高周波ラジオ波メスを用いた直接覆髓法への応用、(2)露髓径がおよぼす修復象牙質形成への影響を調べた。本研究では、ラット覆髓実験モデルを用いた。直接覆髓における高周波ラジオ波メスによる露髓部の止血効果を評価することである。また、近年様々な直接覆髓材の開発がすすみられ、臨床応用されようとしている。新規直接覆髓剤の評価のためには、統一した実験モデルの作製が重要である。そこで本研究の目的は、露髓径の大きさを規格化し、露髓径が修復象牙質形成にどのような影響があるかを検討することである。

## 3. 研究の方法

ウィスター系雄性ラットの上顎第一臼歯に人工露髓面を形成し、(1)各種強度の高周波ラジオ波によって止血を行い、通法の止血法と比較検討した。(2)各種大きさのKファイルを用いて露髓部の拡大を行った。その後、水酸化カルシウム製剤によって直接覆髓法を施し、14日または28日後に組織を摘出した。通法に従って組織標本作製し、HE染色を行った。組織標本は、光学顕微鏡にて修復象牙質の形成量とその質および歯髄炎の程度を組織化学的に検討を行い、統計処理によって判定した。

## 4. 研究成果

本申請で当初研究を計画していたヒト歯髄の不死化実験は、現時点で成功には至らないため、本研究期間内では、新規の覆髓法の確立と覆髓法効果の判定基準づくりを行った。そこで以下の2点を成果としてあげること

ができた。①高周波ラジオ波メスを用いた直接覆髓法への応用、②露髓径がおよぼす修復象牙質形成への影響

### (1) 高周波ラジオ波メスを用いた直接覆髓法への応用

摘出した組織像は、通常止血に比較して、高周波ラジオ波によって止血された実験群で、良質な修復象牙質および軽微な歯髄炎程度であった。判定は以下に示す基準によって判定した。

#### ①修復象牙質の判定

歯髄腔に占める修復象牙質の形成面積をimage Jにて算出した。施術14日後における修復象牙質の形成量は、各実験群間で有意差は観察されなかった。28日後ではoutput3~7で形成量が増加した。

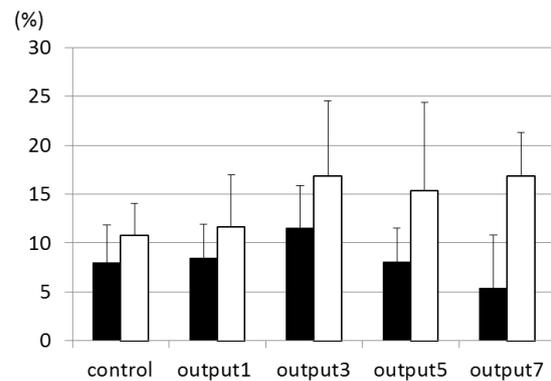


Fig.1 各実験群における歯髄腔に対する修復象牙質形成量について

#### ②修復象牙質の緻密度

形成が観察された修復象牙質面積から細胞成分および空隙部分の面積を差し引いて、修復象牙質の緻密度とした。

施術14日後、28日後において、コントロール群と比較して、高周波ラジオ波メスを用いた実験群の緻密度は良好であった。

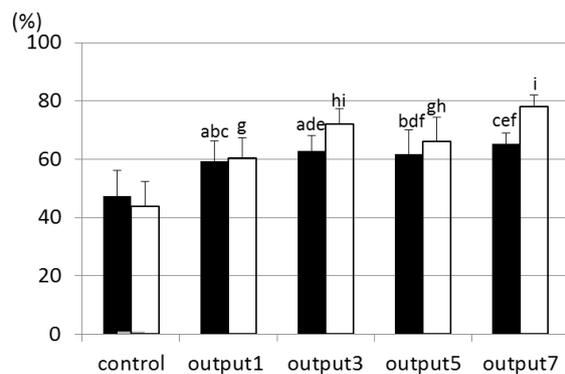


Fig.2 形成した修復象牙質の緻密度について

て  
同記号間での有意差(p<0.05)を示す。

③歯髄の炎症程度に対する評価基準

score4; 正常歯髄と同等程度もしくは最小限の炎症を伴う軽度の血管拡張

score3; 軽度の炎症性反応もしくは露髄面に限局した炎症性細胞の浸潤

score2; 一部歯髄に限局した中等度の炎症性細胞の浸潤

score1; 冠部歯髄全体に広がる強度の炎症性細胞の浸潤

通常止血と比較して高周波ラジオ波を用いた止血は、歯髄の炎症度が低く、修復象牙質形成が早期に誘導された。しかし、過度の高周波ラジオ波では、高度の炎症反応が観察された。

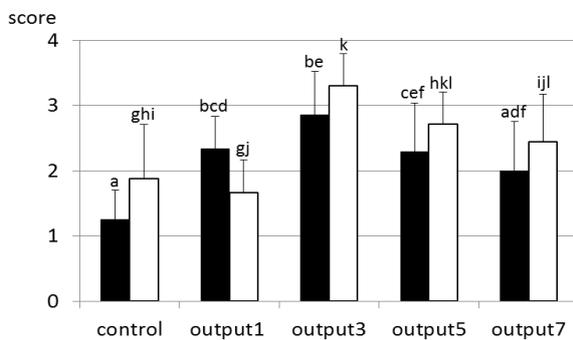


Fig.3 歯髄炎症の程度の評価について  
同記号間での有意差(p<0.05)を示す。

また、止血時間は高周波ラジオ波メスによる実験群が、平均 10 秒であったのに対し、コントロール群は2分9秒であった。このことから高周波ラジオ波メスによる止血効果は時間短縮に役立つばかりでなく、確実に効果の高い修復象牙質形成を誘導することが分かった。

(2) 露髄径がおよぼす修復象牙質形成への影響について

組織摘出後、以下の判定基準によって形成された修復象牙質を評価した。

grade1; 象牙芽細胞叢の規則的配列および良好なデンチンブリッジ形成

grade2; 石灰化組織内に細胞成分を含む不完全なデンチンブリッジの形成 (裂隙)

grade3; 線維性組織による保護もしくは石灰化程度が低い硬組織形成

grade4; 一部にデンチンブリッジ形成

grade5; デンチンブリッジ形成は観察されない

#30 によって拡大された露髄径では、術後 14 日目にて良質な修復象牙質が形成された。一方、#50 群および#80 群、#100 群では、トンネル状欠損を有する修復象牙質の形成が

観察された(fig4)。これらの結果から、露髄径の大きさは、良質な象牙質再生に影響を与えることが示唆された。

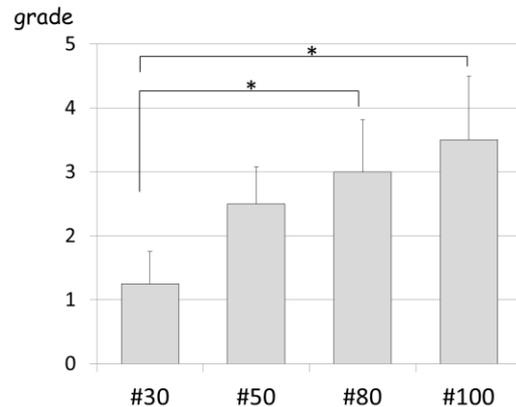


Fig.4 修復象牙質の形成の評価 \*p<0.05

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

1.小池俊之、半田慶介、林敬次郎、Mohammad Ali Akbor Polan、斎藤隆史

ラット上顎臼歯における BMP-石灰藻由来ハイドロキシアパタイト複合体の修復象牙質誘導、北海道医療大学雑誌 29(2),183-189, 2010.査読有

2.小池俊之、半田慶介、斎藤隆史

Phosphophoryn/アルギン酸ゲル複合体によるラット象牙質形成、北海道医療大学雑誌 28(2),14,2009.査読有

3.半田慶介、小池俊之、清野透、斎藤隆史

不死化イヌ歯髄細胞株の樹立とその特性の解析、日本歯科保存学会雑誌、2009,52(3)288-294.査読有

[学会発表] (計 9 件)

1.半田慶介、小池俊之、林敬次郎、斎藤隆史、直接覆髄法における高周波ラジオ波メスの応用、平成 23 年度第 50 回歯科基礎医学会学術大会(岐阜)、2011 年 9 月

2.半田慶介、小池俊之、林敬次郎、斎藤隆史、露髄径が及ぼす修復象牙質形成への影響について、平成 23 年度第 9 回日本再生歯科医学会大会 (大阪)、2011 年 9 月

3.半田慶介、小池俊之、林敬次郎、斎藤隆史、Application of high frequency radio wave generator in direct pulp capping、3th International Symposium on Surface and Interface of Biomaterials (札幌)、2011 年 6 月

4.半田慶介、小池俊之、林敬次郎、斎藤隆史、  
Application of high frequency radio wave  
generator in direct pulp capping、  
International dental materials congress (韓国)、2011年5月

5.半田慶介、小池俊之、林敬次郎、斎藤隆史、  
直接覆髄法における高周波ラジオ波メスの  
応用平成22年度秋期第56回日本歯科理工学  
会学術講演会(岐阜)、2010年10月

6.半田慶介、小池俊之、林敬次郎、斎藤隆史、  
高周波ラジオ波を用いた直接覆髄における  
修復象牙質の免疫組織学的観察、平成22年  
度秋季大会(第133回)日本歯科保存学会(岐  
阜)、2010年10月

7.半田慶介、小池俊之、林敬次郎、斎藤隆史、  
高周波ラジオ波を用いた直接覆髄における  
修復象牙質の免疫組織学的観察、第8回日本  
再生歯科医学会大会(名古屋)、2010年9月

8.半田慶介、小池俊之、林敬次郎、斎藤隆史、  
直接覆髄法における高周波ラジオ波メスの  
応用、平成21年度第7回日本再生歯科医学  
会(福岡)、2009年10月

9.半田慶介、小池俊之、林敬次郎、斎藤隆史、  
直接覆髄法における高周波ラジオ波メスの  
応用、平成21年度第131回日本歯科保存学  
会秋季学術大会(仙台)、2009年10月

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

半田 慶介 (Handa Keisuke)

北海道医療大学・歯学部・講師

研究者番号：40433429

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：