

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 11 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592792

研究課題名(和文) 知覚過敏抑制材の効果 光化学トレーサー法による象牙質透過性の解析

研究課題名(英文) Effects of desensitizing agents Analysis of dentin permeability by photochemical tracer method

研究代表者

兼平 正史 (Kanehira, Masafumi)

東北大学・歯学研究科(研究院)・助教

研究者番号：30177539

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)： 知覚過敏症の後戻りの原因はいまだに解明されていない。我々は、象牙質透過性の定量的計測法を開発し、知覚過敏抑制材の効果を経時的に解析する手法を確立した。本研究では象牙質透過性計測の実施と微細形態学的解析を行い、抑制効果が時間と共に変化するプロセスを解析した。その結果、ごく微少な粒径の結晶生成でも高い透過性抑制効果を示し、象牙細管内の結晶生成には意義がある事、レジン系材料では特定成分の濃度と時間の経過が透過性に影響を与える事、リン酸カルシウム系材料では、使用する溶液で内部結晶の生成量や構造が変化する事が判明した。

研究成果の概要(英文)： The cause for regression of hypersensitivity has not yet been fully elucidated. We have established a method to measure quantitatively dentin permeability, and to analyze the time-based effect of hypersensitivity. The gradual relief of hypersensitivity with time was analyzed by morphological analysis of the dentin slices and measurement of their permeability. Crystal deposition in orifices of dentinal tubules was evident. Even small particle size crystallites not completely obturating dentinal tubules, have a major effect on reduction of permeability. The concentration of hydroxyethyl methacrylate affects the permeability of resin-based material for hypersensitivity. The structure and volume of the internal crystal varies depending on the stock solution in calcium phosphate-based material.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・保存系治療歯学

キーワード：知覚過敏 抑制材 象牙質透過性 光化学 ルミノール

1. 研究開始当初の背景

知覚過敏を有する患者は多い。疫学調査によれば、国民の8～35%が知覚過敏を経験し、別な調査では30代40代の45～57%が知覚過敏を経験していると報告されており、これはかなりの割合である。一般に知覚過敏は、重篤な状態に至ることは少ない疾患であるが、処置後も早期に後戻りするケースが多く、症状は弱くても訴えは高頻度であり、対策を講じる必要がある。

象牙質知覚過敏については、生理学の立場から種々の学説があるが、そのなかでも、「動水力学説(Hydrodynamic Theory)」は広く支持されている。この「動水力学説」では、象牙質知覚過敏は象牙質の透過性上昇を前提としており、この理論は提唱したBrännstromは、疼痛誘発刺激が象牙細管内液を移動させること、象牙細管内液の移動方向を問わず、細管液の移動が象牙質あるいは歯髄にある神経を興奮させることを見出した。この時の象牙質透過性は、象牙細管数とその開口径に比例すると考えられ、Pashleyはこの時の象牙細管内における流体コンダクタンスに着目し、象牙質における流体の透過性をSplit Chamberを用いて計測する方法を考案した。この方法は象牙細管内液移動の様相を定量的に観察する方法として、象牙質知覚過敏抑制材の開発や象牙質接着に関わる研究に大きな進歩をもたらした。しかし本来、ヒト象牙質における透過量はごく微量であり、上記方法によって透過量を可視化する計測装置には配管のコンプライアンスや温度環境などを厳密に均一化することが要求され、さらにこの方法ではごく短時間に変動する透過量を検知するには限界がある事が明らかとなってきた。

そこで我々は、ヒト象牙質の透過性を簡便に、しかも透過量の瞬間的な変動を捉えて高速サンプリングを可能とする方法として化学発光を用い、これを電子的に計測するためSplit Chamberの一部にウィンドウを設けた光化学反応検知セルを開発した。この方法では、象牙質ディスクに微量でも強いルミノール発光を惹起する励起剤をトレーサーとして用い、その量に応じた化学発光を高感度フォトダイオードにて検知し、コンピュータで処理するものである。

この方法はPashleyらの方法に比べかなりの点において有用性が高いものと考えられる。

2. 研究の目的

知覚過敏処置後における症状の後戻りを多くの歯科医が経験しており、対応に苦慮する局面がある。後戻りの原因ならびそのプロセスはいまだ解明されておらず、その理由として、症状に着目したin vivo解析、および象牙質透過性を対象としたin vitroシミュレーションの困難さがあげられる。我々は、ルミノール化学反応を応用した象牙質透過性の定量的計測法を開発し、知覚過敏抑制材の

効果を経時的に解析する手法を確立した。本研究では知覚過敏処置後における象牙質透過性計測の実施と、並行して象牙質に対する微細形態学的解析を行い、知覚過敏抑制効果が時間と共に変化するプロセスを解明し、より実効性ある知覚過敏抑制法を確立する事を目的とした。

3. 研究の方法

(1) 象牙質透過性試験には、ヒト第三大臼歯から調整した厚さ1.4mmの象牙質ディスク片を作製し、両面をEDTAにて処理して試料とした。

本研究に使用する象牙質透過性リアルタイム検知装置の概要を下に示した。片側のchamberに化学発光試薬ルミノールを充填し、一方のchamberには発光トリガー液を充填する。トリガー側を加圧するとトリガーは象牙質試験片内に浸透し、発光試薬側chamberに達して化学発光を生じる。その強度を時系列的に計測することで試料の透過性を計測するものである。

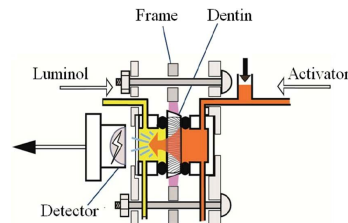


図1. 化学発光による象牙質透過性計測法の概念図

(2) 象牙質表面をバー等の回転器具で切削すると表面にスメア層が形成されることが知られている。我々は特殊なレジンバーを使用した際に生成されるスメア層は、強固に象牙質表面に付着することを報告している。このスメア層は象牙細管内に生成される結晶と構造原理が類似しているが、この方法を用いてスメア層を表面に生成して、象牙細管の透過性の効果検証を行うとともに電子顕微鏡を用いて形態学的に検討した。

(3) レジン系象牙質知覚過敏抑制材では、親水性および象牙質への浸透性が優れていることから、2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA)がその成分として含まれていることが多い。これらの成分は重合後皮膜として象牙質表面を被うことで、象牙質透過性を抑制する。ここでは HEMA を含有するレジン系知覚過敏抑制材の象牙質透過性抑制効果を濃度と時間の関連性で検証した。

(4) HEMA/Glutaraldehyde 製剤は、象牙細管内のタンパク成分を凝固させる事により象牙質の透過性を抑制すると考えられている。HEMA および Glutaraldehyde の単独の効果と HEMA/Glutaraldehyde 製剤の効果象牙質透過性試験により比較した。

(5) 生体親和性に優れているとされるリン酸カルシウム系の知覚過敏抑制材の象牙質透過性抑制効果を、時間経過と重ね塗り効果の関係を象牙質透過性試験にて検証すると

共に、電子顕微鏡および共焦点レーザー顕微鏡にて形態学的に観察した。

4. 研究成果

(1) 我々の開発した装置では、ヒト象牙質の透過性を簡便にしかも透過量の瞬間的な変動を捉えた高速サンプリングをしているが、象牙質透過量はごく微量である事から、この機械の精度は結果に大きな影響を与える。そこで最初に装置の大幅な改造を行い基本性能の向上を図った結果、5倍の感度で検知できるようになり以前に比べより精細な解析ができるようになった。本研究で使用したルミノール化学反応を応用した象牙質透過性試験器は、我々が開発した独自のものであり、国内外に類似の装置はない。Pashleyの開発した従来法に比較しその有益性は検証されている。

(2) 象牙細管内に結晶を生成させる方法と類似の構造原理が考えられるスメア層を表面に生成する方法での効果検証を行い、象牙細管の透過性をシミュレートしながら形態学的に検討した。その結果、ごく微小な粒径の物でも象牙質の透過性抑制効果は非常に高い事が判明し、結晶生成物を象牙細管内に生成させることには意義がある事を立証した。

(3) レジン系被膜を象牙質表層に作製してその成分が透過性に及ぼす影響について検討した結果、この種の知覚過敏抑制材では使用する特定成分 HEMA の濃度が透過性に影響を与える事、また細管内の水分による加水分解等の影響が示唆された。透過性は3ヶ月を過ぎる頃から亢進し、時間の経過が透過性に影響を与える重要な因子である事を明らかにした。

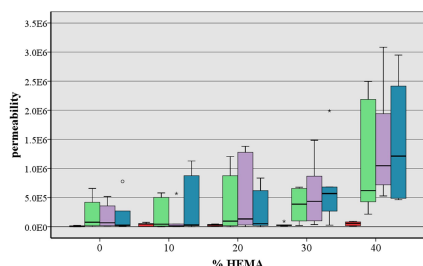


図2. HEMA含有量が象牙質透過性に及ぼす影響

(4) HEMA/Glutaraldehyde 製剤は、象牙細管内のタンパク成分を凝固させる事により象牙質の透過性を抑制すると考えられているが、HEMA および Glutaraldehyde の単独の効果と製剤の効果を比較した。製剤の場合には高度に透過性を抑制したが、成分単独の場合にはそれほど大きな透過性抑制は見られなかった。また、この製剤の形態をゲル状にしたものについて、象牙質透過性抑制効果と効果時間について検証した。液体およびゲル状の双方とも象牙質透過性を高度に抑制し、またその効果時間も長期にわたることがわかった。ゲル状にする事よりに操作性の改善

が見込まれ、この物質を臨床に応用する事の有益性が期待された。

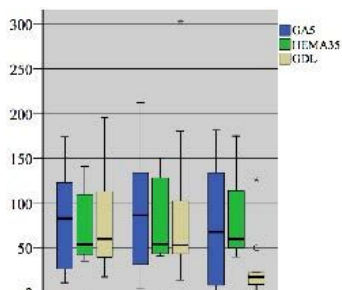


図3. HEMA/Glutaraldehyde 製剤の透過性抑制効果

(5) リン酸カルシウム系材料を使用して象牙細管内に結晶を生成させる方法について、結晶生成状況を電子顕微鏡により確認しながら、象牙質透過性抑制効果について検討した。この材料では試料を保管する溶液で内部結晶の生成量や構造が変化する事が判明した。さらに塗布条件の違いや保管期間なども象牙質透過性に影響を及ぼしている事がわかった。

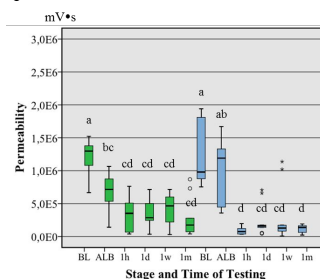


図4. リン酸カルシウム系知覚過敏抑制材の重ね塗り効果と時間

この材料は生体適合性が高い材料とされているが、これらの結果は今後より生体適合性の高い象牙質知覚過敏抑制材の開発に必要な基本データとする事ができ有益な成果となった。

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 4 件)

1. Effects of applying glutaraldehyde-containing desensitizer formulations on reducing dentin permeability ; Hiroshi Ishihata, Masafumi Kanehira, Werner J. Finger, Hidetoshi Shimauchi, Masashi Komatsu, Journal of Dental Sciences, 7, 105-110, 2012, 査読有, doi:10.1016/j.jds.2012.03.005
2. Effects of two topical desensitizing agents and placebo on dentin hypersensitivity ; JUGAL VORA , WERNER J. FINGER , MASAFUMI KANEHIRA 他 3 名 3 番目, American

- Journal of Dentistry, 25(2), 293-298, 2012, 査読有, <http://www.amjdent.com/>
3. Effects of glutaraldehyde, HEMA, and Gluma Desensitizer on in vitro dentin permeability ; Hiroshi Ishihata, Masafumi Kanehira, Werner J. Finger, Hidetoshi Shimauchi, Masashi Komatsu, International Journal of Contemporary Dentistry, 2(1), 3-8, 2011, 査読有, <http://edentj.com/index.php/ijcd/index>
 4. In vitro dentin permeability after application of Gluma® desensitizer as aqueous solution or aqueous fumed silica dispersion ; Hiroshi Ishihata, Werner J. Finger, Masafumi Kanehira, Hidetoshi Shimauchi, Masashi Komatsu, J Appl Oral Sci, 19(2), 147-153, 2011, 査読有, http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_serial&pid=1678-7757

〔学会発表〕(計 5 件)

1. Kanehira M, Ishihata H, Finger WJ, Masahiro Saito, In vitro evaluation of dentin permeability after application of a calcium-phosphate desensitizer, Innovative Research for Biosis-Abiosis Intelligent Interface Symposium, 2014 年 1 月 20 日 ~ 21 日, 仙台
2. 山口純世、兼平正史、石幡浩志、FINGER W.J., 知覚過敏抑制材の象牙質透過性及びその影響, 日本歯科保存学会 2013 年度春季学術大会, 2013 年 6 月 27 日 ~ 28 日, 博多
3. Boreak N.M., Ishihata H., Kanehira M., Finger W.J., Shimauchi H., Komatsu M., Determination of the velocity of fluid flow in dentinal tubules using a photochemical detector, NIH Tohoku University JSPS Symposium, 2013 年 5 月 9 日 ~ 11 日, 仙台
4. Masafumi KANEHIRA, Hiroshi ISHIHATA, Nezar M. BOREAK, Werner J. FINGER, Hidetoshi SHIMAUCHI, Permeability of experimental self-etch adhesives with different content of HEMA, The 92nd General Session & Exhibition of the the International Association for Dental Research, 2013 年 3 月 20 日 ~ 23 日, シアトル(USA)
5. 石幡浩志、兼平正史、ボレイク ネザール、FINGER WJ、島内英俊、小松正志, Effect of smear produced with a resin fiber bur on in vitro permeability of human dentin, 日本歯科保存学会 2012 年度春季学術大会, 2012 年 6 月 28 ~ 29 日, 那覇

6 . 研究組織

(1)研究代表者

兼平 正史 (KANEHIRA, Masafumi)
 東北大学大学院歯学研究科・助教
 研究者番号 : 3 0 1 7 7 5 3 9

(2)研究分担者

石幡 浩志 (ISHIHATA, Hiroshi)
 東北大学大学院歯学研究科・助教
 研究者番号 : 4 0 2 6 1 5 2 3