

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 21 日現在

機関番号：32703

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592888

研究課題名(和文)新規口腔内モデルを利用した、高齢者根面う蝕に対する過再石灰化システムの構築

研究課題名(英文)Hyper-remineralization strategy for root caries of older persons using the novel intraoral device

研究代表者

椎谷 亨(Shiiba, Toru)

神奈川県立歯科大学・大学院歯学研究科・講師

研究者番号：40350532

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：さまざまなイオンを徐放する、新規フッ化物徐放性歯面コーティング材およびレジン系仮封材は、in vitroにおいて歯根象牙質の脱灰抑制能、強いては再石灰化能を示すことが明らかとなったが、in situにおける歯面コーティング材の脱灰抑制効果は、in vitroでの研究と比較すると、日常的に使用しているフッ化物含有歯磨剤の効果によりマスクされてしまう傾向が認められた。また、効果の見られなかった被験者には明らかに正常より唾液分泌量の低い者もあり、今後このような材料を利用した口腔内実験を引き続き行うことにより、臨床的に初期表層下脱灰病巣の過再石灰化システムを構築したいと考えている。

研究成果の概要(英文)：This study indicated that the novel teeth coating material and the novel resin-based temporary filling material which contained S-PRG filler had remineralization and anti-demineralization effects on dentin in vitro. S-PRG filler could release various types of ions, including fluoride, strontium, sodium, boron, aluminum and silicate ions. However, in situ investigation, daily use of fluoride-containing dentifrice diminished the effect of the materials on root dentin demineralization. Further, among the subjects of lower saliva flow rate, the materials could not bring out the anti-demineralization effects. We would like to establish the system which induces hyper-remineralization on subsurface dentin lesions for even these patients.

研究分野：保存修復学

キーワード：過再石灰化 口腔内モデル TMR分析 象牙質脱灰 in situ 根面う蝕

1. 研究開始当初の背景

高齢者数の増加、歯科検診の普及そしてコマースを含むマスメディア報道による一般大衆の口腔衛生に対する意識の向上、および歯周病治療の進展に伴い、1人あたりの残存歯数は増加している。以前であれば抜歯適応と診断されていた歯根露出歯も、現在では保存することが一般的となりつつある。しかしその反面、歯根露出歯では根面う蝕の発生が多く認められ、また歯根象牙質はう蝕の進行が速く、歯科医師がその処置に苦慮しているのも事実である。根面う蝕の発生をいかにして抑制するか、そして不幸にも根面にう蝕が生じてしまった場合でも、う窩形成のない初期う蝕であるならば、充填処置ではなく再石灰化処置による保存が望まれる。

過再石灰化(hyper-remineralization)は、元来の健全歯質ミネラル濃度以上の再石灰化現象を示すもので、これまでも ten Cateらは充填されたガラスアイオノマーセメント近傍の象牙質病巣において過再石灰化現象が生じることを報告しており(ten Cate JM, van Duinen RN: J Dent Res 74, 1266-71, 1995), また稲葉らは歯根面の過再石灰化にセメント質の有無がきわめて強く影響することを明らかにしている(口腔衛生学会雑誌 46, 46-52, 1996)。歯根象牙質のう蝕が表層下脱灰病巣の段階である場合、過再石灰化現象を利用した治療が可能となれば、臨床的に非常に有効となるであろう。

2. 研究の目的

本研究の目的は、初期根面う蝕を切削することなく、人為的に過再石灰化を生じさせていかに治癒を図るかを、実際の口腔内をシミュレートした実験系で検討することである。高齢者の歯の多くはその歯根が口腔内に露出しており、重篤な根面う蝕に罹患する危険性にさらされていることもしばしばである。本研究の目的は、私達の所属する研究室で考案した口腔内モデル(*in situ* 実験)を利用して、実際の口腔内により近い環境下で高齢者根面う蝕に対する過再石灰化治療システムを構築することにある。

3. 研究の方法

(1) *in vitro*における新規フッ化物徐放性歯面コーティング材の歯根象牙質脱灰抑制能の検討

凍結保存したウシ下顎中切歯の歯根部を歯頸部直下およびそれより5mm根尖側の位置で低速切断機(Isomet™, Buehler)を用いて水平断し円筒状象牙質歯片を作製後、ワイヤー式精密切断機(Well®3242, Walter Ebner)にて歯軸方向に2分割し、それぞれを実験(sprg)群およびcont群試料とした(n=6)。sprg群ではフッ化物イオンなど多種のイオ

ンを徐放する新規材料(=PRGバリアコート)を、またcont群ではそのようなイオンを徐放するS-PRGフィラーを含まない以外は新規材料と全く同じ成分の材料を使用した。2液を混和後、専用ブラシにて象牙質試料の平坦な試験面の半分に塗布し、10秒の光照射を行った。その後、塗布した部分が0.5mm×3mm、および隣接する露出新鮮象牙質面も0.5mm×3mmとなるように、耐酸性ネイルバーニッシュを施し試験面積を規定した。

円筒状プラスチック製容器の底部に象牙質試料を固定後、50mM酢酸ゲル(pH5.0)により1週間脱灰を行い、軟X線装置(PW3830)にてTMR撮影(管電圧25kV、管電流15mA、照射時間20分)した。その後、分析用ソフト(TMR 2000)を用いてsprg群およびcont群各々のミネラルプロファイルを作成し、平均ミネラル喪失量(IML: vol% × μm)を算定した。

(2) *in situ*における新規フッ化物徐放性歯面コーティング材の歯根象牙質脱灰抑制能の検討

象牙質試料をウシ下顎中切歯の歯根部から作製し、超音波にて30分間洗浄した後、チューブ状プラスチック容器の水に浸漬した状態で、放射線照射施設にガンマ線滅菌(総線量4,100Gy)の依頼を行った。その後3×1mmの窓開けをネイルバーニッシュにて行った。窓開け面の半分を新規フッ化物徐放性歯面コーティング材で被覆した象牙質試料、およびコントロールとしてフッ化物イオンなど多種のイオンを徐放するS-PRGフィラーを含まない以外は新規材料と全く同じ成分の材料で被覆した象牙質試料を同数ずつ用意した。平成25年度には、前者試料は各被験者の右側口腔内装置、後者試料は左側口腔内装置の頬側フレンジ凹部に3つずつ挿入し、シリコン印象材を用いて取り付けた。このスケジュールを20日間繰り返した。得られた象牙質試料から通法に従いTMR分析を行った。その後、分析用ソフト(TMR 2000)を用いて各被験者において実験群およびコントロール群各々の平均ミネラルプロファイルを作成し、IMLを算定した。平成26年度は、左右の群を入れ替え、各被験者において左右側が結果に影響を与えないよう配慮した上で同様に実験を行った。

(3) *in vitro*における新規フッ化物徐放性歯面コーティング材の歯根象牙質再石灰化能の検討

ウシ下顎中切歯の歯根部を歯頸部直下およびそれより5mm根尖側の位置で低速切断機を用いて水平断して円筒状象牙質歯片を作製後、ワイヤー式精密切断機にて歯軸方向に2分割し、象牙質試料とした。耐酸性バーニッシュにより被験面を2×3mmに規定した後、50mM acetic acid 脱灰液(pH5.0)に37

で1.5日間浸漬し、脱灰象牙質試料(基準病巣)の作製を行った。

被験面(2×3mm)の半側(1×3mm)に対し、以下の1)~3)の材料塗布を行った。1)バリアコート(S-PRG フィラー含有フッ化物徐放性歯面コーティング材)P群)。2)S-PRG フィラーを含まない以外はバリアコートと全く同じ成分のコーティング材(S-PRG フィラー非含有コート材)(V群)。3)クリンプロ™XTパーニッシュ(レジン添加型グラスアイオノマーセメント)(X群)。また、塗布および再石灰化液浸漬を行わない群を基準病巣群(B群)とした(n=6)。

B群以外の3群は、円筒状プラスチック製容器の底部に象牙質試料を固定後、8% Methocel MC gel (Fluka), およびその上に再石灰化溶液(1.5mM CaCl₂, 0.9mM KH₂PO₄, 130mM KCl, 20mM Hepes, pH6.7)を注入, 37で4週間静置した。得られた試料から薄切片を作製し, TMR撮影(PW3830, 管電圧25kV, 管電流15mA, 照射時間20分)を行った。その後, 分析用ソフト(TMR 2000)を用いて, B群は被験面中央部を, またP, VおよびX群では塗布面隣接部位ならびに塗布面直下を測定したミネラルプロファイルを作成し, IMLを算定した。

(4) *in vitro*における新規レジン系仮封材の歯根象牙質脱灰抑制能の検討

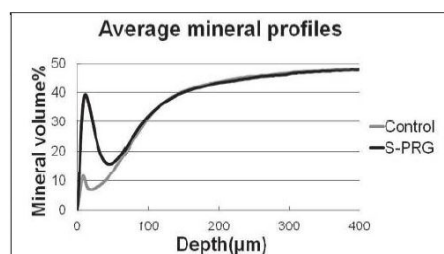
ウシ下顎中切歯の歯根部を歯頸部直下およびそれより5mm根尖側の位置で水平断して得られた円筒状象牙質片をさらに歯軸方向に2分割し, #2,000の耐水研磨紙で象牙質試験面を平坦に仕上げた。3×3mmの試験面が得られるようにスティッキーワックスにて窓開けし, そのうち2×3mmの部位に対し以下の4種類のレジン系仮封材を筆積み法により適用した; 1) デュラシール(Du群) 2) S-PRG フィラー0%含有レジン系仮封材(S0群) 3) S-PRG フィラー10%含有レジン系仮封材(S10群) 4) S-PRG フィラー20%含有レジン系仮封材(S20群)(n=6)。

上記にて作製した象牙質試料をプラスチック製円筒容器の底にスティッキーワックスにて固定し, 8% Methocel MC gel (Fluka)を注入して24時間放置後, その上部に脱灰緩衝液(1.5mM CaCl₂, 0.9mM KH₂PO₄, 50mM acetic acid, 0ppm F, pH5.0)を静かに注入する二層法にて37, 1週間静置し, 仮封材で被覆されていない1×3mmの露出象牙質を脱灰した。象牙質試料から厚さ300μmの薄切片を作製し, TMR撮影(PW3830, 管電圧25kV, 管電流15mA, 照射時間20分)を行った。その後, 分析用ソフト(TMR 2000)を用いて各実験群の平均ミネラルプロファイルを作成し, IMLを算定した。

4. 研究成果

(1) *in vitro*における新規フッ化物徐放性歯面コーティング材の歯根象牙質脱灰抑制能の検討

cont群の平均IMLは, 4,392±744 vol%×μm, 実験(sprg)群の平均IMLは, 3,687±664 vol%×μmであり, 両者間には有意差が認められた。

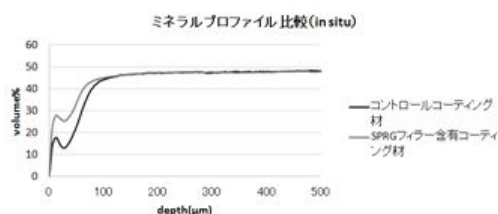


両者では, 表層から深度50μmにかけて, mineral volume%の違いが認められた。すなわち実験群では, 深度約10~20μm付近にミネラル量40vol%近くにまで達する厚く明瞭な表層が観察された。一方cont群では顕著な表層は確認されなかった。

(2) *in situ*における新規フッ化物徐放性歯面コーティング材の歯根象牙質脱灰抑制能の検討

被験者6名の口腔内(*in situ*)にて, 新規フッ化物徐放性歯面コーティング材群(sprg)とコントロール群(cont)を比較した。IMLにおいて, 4名においてsprg群の方が小さい値が得られた。sprg群が有意に小さいIML値を示したのは1名であった(以下にそのミネラルプロファイルを示す)が, Surface mineral content(表層の示すミネラル量)の値が有意に大きな値を示したのは3名であった。

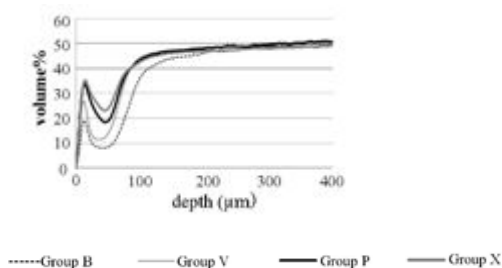
新規フッ化物徐放性歯面コーティング材の効果は*in vitro*での研究と比べると, *in situ*では日常的に使用しているフッ化物含有歯磨剤の効果にマスクされてしまう傾向が認められた。また, IMLが増加した被験者には正常より唾液分泌量の低い者も含まれていたが, この材料を使用することにより臨床的に象牙質の脱灰抑制能を増強させることのできる可能性が示された。



(3) *in vitro*における新規フッ化物徐放性歯面コーティング材の歯根象牙質再石灰化能の検討

平均ミネラルプロファイルの比較では, 特

に隣接部位において、B 群に比較し 3 群ともミネラル密度の上昇が確認され、P 群および X 群のミネラル密度の上昇は顕著であった。IML を比較したところ、隣接部位では B、V、P、X 各群でそれぞれ $3,778 \pm 320$ 、 $2,563 \pm 167$ 、 $2,134 \pm 248$ および $1,987 \pm 177$ であった。3 群間の比較においては、V 群と P 群および X 群間に有意差が認められた ($p < 0.05$) が、P 群と X 群の間には有意差は認められなかった ($p > 0.05$)。



(4) *in vitro* における新規レジン系仮封材の歯根象牙質脱灰抑制能の検討

平均ミネラルプロファイルと比較すると、Du 群および S0 群では明瞭な表層は観察されず顕著な病巣部が認められたが、S10 群および S20 群では深さ約 10~20 μm 付近にミネラル量それぞれ 30 vol% および 40 vol% 近くにまで達する厚く明瞭な表層が観察され、病巣部も軽微であった。平均 IML (vol% $\times \mu\text{m}$) は、Du 群、S0 群、S10 群および S20 群各群でそれぞれ $5,223 \pm 341$ 、 $5,004 \pm 404$ 、 $2,979 \pm 241$ および $2,814 \pm 569$ であり、S10 群、S20 群は Du 群、S0 群に比較し有意に低い値を示した ($p < 0.05$)。一方、S10 群と S20 群間および Du 群と S0 群間には有意差は認められなかった ($p > 0.05$)。(英語論文投稿中)

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 2 件)

1. Effect of the coating material on root dentin remineralization *in vitro*. Shiia T, Tomiyama K, Iizuka J, Hasegawa H, Kuramochi E, Fujino F, Ohashi K, Nihei T, Teranaka T, Mukai Y: American Journal of Dentistry, 査読あり, 27(5), 258-262, 2014.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Effect+of+the+coating+material+on+root+dentin+remineralization+in+vitro>.
2. Anti-demineralization effect of a novel fluoride-releasing varnish on dentin. Shiia T, Mukai Y, Tomiyama K, Teranaka T: American Journal of Dentistry, 査読あり, 25(6), 347-350, 2012.

<http://www.amjdent.com/Archive/Abstracts/2012/December%202012%20Abstracts.html#Shiia>

〔学会発表〕(計 9 件)

1. 椎谷 亨, 富山 潔, 飯塚純子, 長谷川晴彦, 倉持江里香, 藤野富久江, 大橋 桂, 二瓶智太郎, 寺中敏夫, 向井義晴: S-PRG フィラー含有レジン系仮封材の象牙質脱灰抑制能. 神奈川県歯科医師会第 13 回学術大会, 横浜, 2015.1.25.
2. Shiia T, Tomiyama K, Iizuka J, Hasegawa H, Kuramochi E, Fujino F, Ohashi K, Nihei T, Teranaka T, Mukai Y: Anti-Demineralization Effect of an S-PRG Temporary Filling Material on Dentin. The 8th Annual Congress of the Pan European Region of the International Association for Dental Research (PER/IADR), Dubrovnik, Croatia, 2014.9.12.
3. 椎谷 亨, 富山 潔, 飯塚純子, 長谷川晴彦, 倉持江里香, 藤野富久江, 大橋 桂, 二瓶智太郎, 寺中敏夫, 向井義晴: 新規 S-PRG フィラー含有レジン系仮封材の象牙質脱灰抑制能. 神奈川歯科大学学会第 48 回総会, 横須賀, 2013.11.30.
4. 椎谷 亨, 富山 潔, 飯塚純子, 長谷川晴彦, 倉持江里香, 藤野富久江, 大橋 桂, 二瓶智太郎, 寺中敏夫, 向井義晴: 新規 S-PRG フィラー含有レジン系仮封材の象牙質脱灰抑制能. 日本歯科保存学会 2013 年度秋季学術大会 (第 139 回), 秋田, 2013.10.17.
5. 椎谷 亨, 向井義晴, 富山 潔, 飯塚純子, 長谷川晴彦, 倉持江里香, 藤野富久江, 寺中敏夫: PRG バリアコートの根面象牙質再石灰化効果 第 3 報: 塗布直下および隣接部位における獲得耐酸性. 日本歯科保存学会 2013 年度春季学術大会 (第 138 回), 福岡, 2013.6.27.
6. 椎谷 亨, 向井義晴, 富山 潔, 飯塚純子, 長谷川晴彦, 倉持江里香, 藤野富久江, 寺中敏夫: PRG バリアコートの根面象牙質再石灰化効果. 神奈川歯科大学学会第 47 回総会, 横須賀, 2012.12.1.
7. 椎谷 亨, 向井義晴, 富山 潔, 飯塚純子, 長谷川晴彦, 倉持江里香, 藤野富久江, 寺中敏夫: PRG バリアコートの根面象牙質再石灰化効果 第 2 報: 耐酸性試験. 2012 年度秋季学会 (第 137 回) 日本歯科

保存学会，広島，2012.11.22.

8. Shiia T, Mukai Y, Tomiyama K, Iizuka J, Hasegawa H, Kuramochi E, Fujino F, Teranaka T: Effect of PRG Barrier Coat on dentin remineralization in vitro. IADR Pan European Region, Helsinki, 2012.9.15.
9. 椎谷 亨, 向井義晴, 富山 潔, 飯塚純子, 長谷川晴彦, 倉持江里香, 平林正道, 藤野富久江, 寺中敏夫: PRG バリアコート
の根面象牙質再石灰化効果. 2012年度春季学会(第136回)日本歯科保存学会, 沖縄, 2012.6.29.

6. 研究組織

(1)研究代表者

椎谷 亨 (SHIYA TORU)
神奈川歯科大学・大学院歯学研究科・講師
研究者番号：40350532

(2)研究分担者

向井 義晴 (MUKAI YOSHIHARU)
神奈川歯科大学・大学院歯学研究科・准教授
研究者番号：40247317

寺中 敏夫 (TERANAKA TOSHIO)
神奈川歯科大学・歯学部・名誉教授
研究者番号：60104460