

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 26 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2016

課題番号：25861788

研究課題名(和文) ナノバブルを応用した次世代根管洗浄システムが開拓する生体に優しい根管治療法

研究課題名(英文) New endodontic treatment using advanced root canal irrigation system using nano-bubble

研究代表者

辺見 浩一 (Henmi, Kouichi)

東京医科歯科大学・歯学部・非常勤講師

研究者番号：80586389

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：歯内療法において根管内の無菌化なくして根管治療の成功は期待できない。しかし化学的根管洗浄において広く使用されている6%次亜塩素酸ナトリウム溶液は濃度が高く危険である。ナノバブルを応用し、低濃度の次亜塩素酸ナトリウム溶液であっても、安全で効率的に殺菌できるシステムを構築することを目的として、ナノバブル溶液を1%の次亜塩素酸ナトリウム溶液と混和し、難治性根尖性歯周炎に關与するエンテロコッカスフェカリスに添加した。その結果、ナノバブル添加低濃度次亜塩素酸ナトリウム溶液は非添加次亜塩素酸ナトリウム溶液と比較して有意に細菌を排除した。

研究成果の概要(英文)：Without sterilization in the root canal system, no good outcome of root canal treatment. However, high concentration of sodium hypochlorite solution, most popular root canal irrigative solution, sometimes cause severe injury if it comes outside of the root canal system via apex. We revealed that the application of nano-bubble to low concentration sodium hypochlorite solution improved its bactericidal effects for *Enterococcus faecalis*, commonly detected in persistent endodontic infections. These results indicate that nano-bubble may contribute to establish a safe and effective irrigative system.

研究分野：歯内療法学

キーワード：ナノバブル 根管洗浄 歯内療法 *E. Faecalis* 次亜塩素酸ナトリウム溶液 SEM

1. 研究開始当初の背景

根管洗浄液として 6% (あるいは 10%) 次亜塩素酸ナトリウム溶液が最も一般的である。次亜塩素酸ナトリウム溶液の特徴はその非特異的かつ強力な殺菌力であり、または経済的にも優れた薬液である。しかし作用が強力であるが、それでも根尖病変の遷延化に関与するといわれている *Enterococcus faecalis* (以下 *E. faecalis*) を完全に殺菌することは難しいと報告されている¹。また副作用も強く、根尖孔外に漏出すると強い痛みとともに隙を伝わり様々な部位に損傷を起す。6% 次亜塩素酸ナトリウム溶液漏出事故を防ぐためには、組織傷害性の低い濃度での使用を検討すべきと考えられるが、現在の濃度であっても確実な殺菌ができていないことから、単純に濃度を薄くするだけでは、安全性は高まっても肝心の殺菌能が減弱し、根管内の無菌化の達成もおぼつかなくなってしまう。

ところでナノレベルのバブルリポゾーム^{2,3}は、近年細胞内へのドラッグデリバリーにおける画期的な方法として注目を集めている。ナノサイズのリポゾームを超音波により破碎すると衝撃波が発生し細胞表面に微細な穴があき、そこから試薬が取り込まれる。このシステムは安全性が高いといわれており、すでに臨床において使用されている。ヒトにおいてはソナゾイドが造影剤として用いられ、高い臨床効果が認められているのみならず、副作用についての報告は認められない。

2. 研究の目的

歯内療法 of 成否の鍵となるのは、根管

内の無菌化であり、無菌化において重要な役割を担うのは根管洗浄である。しかし現在行われている次亜塩素酸ナトリウム溶液によるシリンジを用いた洗浄だけでは無菌化の達成は難しいとともに、根管外に漏出すると軟組織の傷害を惹起してしまう。本研究の目的は、根管洗浄液を安全な濃度で確実に作用させるための新しい根管洗浄法の開発である。ドラッグデリバリーの手法として注目されているナノバブルを根管洗浄に応用し、ナノサイズのリポゾームを超音波にて破碎し、その衝撃波を利用して薬剤を細胞・細菌への浸透させる。この手法を根管洗浄に応用し、低濃度の根管洗浄液で最大の効果を得る条件を探るとともに、その殺菌効果のメカニズムを探求する。

3. 研究の方法

(1) 根尖病変の遷延化の原因となる *E. faecalis* を用いた実験

根尖性歯周炎の治癒を阻害する因子として、*E. faecalis* の根管における感染が問題とされている⁴。これまでに *E. coli* に対するナノバブルの殺菌効果について調べてきたが、*E. faecalis* に対するナノバブルの効果について検討する。*E. faecalis* は理研バイオソースセンターより入手する。

E. faecalis は Trypticase Soy 培地にて培養し、細菌が増殖することを確認した。対数増殖期にある *E. faecalis* を生理食塩液に懸濁し、生理食塩液、生理食塩液 + ナノバブル、1% 次亜塩素酸ナトリウム溶液、1% 次

亜塩素酸ナトリウム溶液 + ナノバブルを添加した。その後すぐに細菌溶液を超音波処理は根管を模した 200ul ピペットチップ内に挿入し、SonoPoreKTAC-4000 (NepaGene) を用いて超音波処理を行った。プローブは振動子直径 8mm 先端径 0.5mm を使用した。照射条件は Frequency : 925KH z、電圧 : 100V 印加で Power0.83-0.60W程度、Burst rate : 20Hz、Duty : 50%、Duration : 30sec で行った。照射中プローブはチップ内で上下に動かした。

(2) ナノバブルの効果の SEM による検討

ナノバブルの E. Faecalis に対する殺菌効果について、ルシフェラーゼ活性を用いて検討するだけではなく、SEM を用いた解析も検討する。電子顕微鏡の実験については、本学機器分析センター電子顕微鏡部門市野瀬志津子先生の指導を仰ぐ。

4. 研究成果

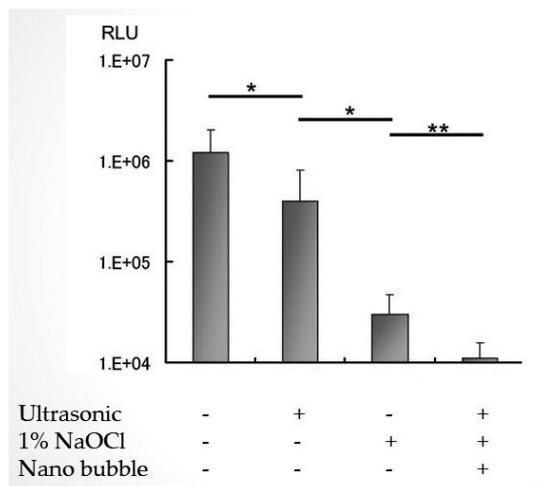
(1) 根尖病変の遷延化の原因となる E.

faecalis を用いた実験

E. faecalis にナノバブルを添加し、超音波を適用したところ、低濃度次亜塩素酸ナトリウム溶液の殺菌効果を著しく増強することが明らかになった。

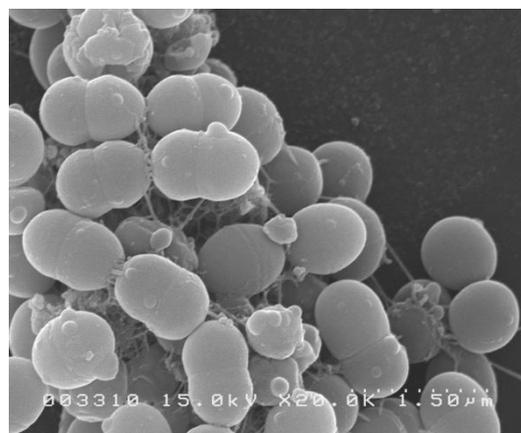
(2) ナノバブルの効果の SEM による検討

E. Faecalis を SEM にて観察した結

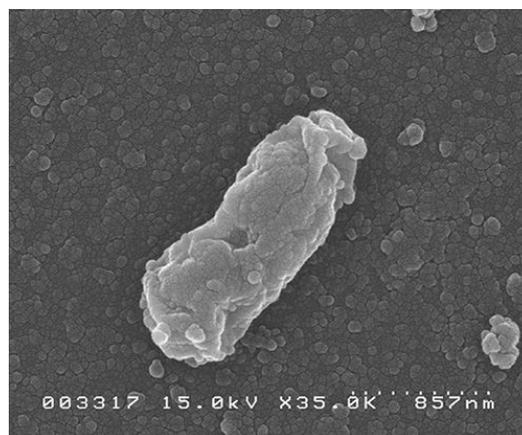


果を以下に示す。球菌又は双球菌である E. Faecalis の形状が確認された。

次に、ナノバブル、超音波処理を行



った E. Faecalis の形状を以下に示



す。

ナノバブル + 超音波処理によりジェット流が発生し、細菌に穴が開

いたと思われる像が観察された。

今回、ナノバブルが *E. faecalis* に対しても有効であったことから、臨床における根管洗浄にナノバブルを応用することで、低濃度の次亜塩素酸ナトリウムであっても効果的に細菌を排除できる可能性が示唆された。今後臨床での応用を踏まえ、安全性等についてより重点的に検討していく必要があると思われる。

<引用文献>

1. Baca P et al, Residual effectiveness of final irrigation regimens on *Enterococcus faecalis*-infected root canals. *J Endod.* 2011 Aug;37(8):1121-3.
2. Suzuki R, Maruyama K. et al., Gene delivery by combination of novel liposomal bubbles with perfluoropropane and ultrasound. *J Control Release.* 2007 Jan 22;117(1):130-6.
3. Iwanaga K, Tominaga K, et al., Local delivery system of cytotoxic agents to tumors by focused sonoporation. *Cancer Gene Ther.* 2007 Apr;14(4):354-63.
4. Charles H. Stuart et al, *Enterococcus faecalis*: Its Role in Root Canal Treatment Failure and Current Concepts in Retreatment, *J Endod* 2006;32:93-98.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

川島伸之、辺見浩一、市野瀬志津子、鈴木孝尚、山下直也、立花克朗、中島美砂子。超音波感受性ナノバブルを応用した

効果的な根管内細菌の殺菌法の開発。超音波 TECHNO 査読無し 2013年9-10月号 28-34.

〔学会発表〕(計2件)

Henmi K, Kawashima N, et al. Effects of Nano-bubbles on *Enterococcus faecalis* - Transmission Electron Microscopy Investigation, The 9th World Endodontic Congress, International Federation of Endodontic Association, May23-26, 2013. Tokyo International Forum, Tokyo (Japan).

川島伸之、山本弥生子、橋本健太郎、Alumddin Bakhit、小泉悠、辺見浩一、大井智恵、鈴木規元、興地隆史、歯髄組織および歯肉組織より得られた間葉系幹細胞の硬組織形成細胞への分化能の比較、第142回日本歯科保存学会春季大会2015年6月25、26日、西日本総合展示場・北九州国際会議場、(北九州市、小倉)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

辺見 浩一 (HENMI Kouichi)

東京医科歯科大学・歯学部・非常勤講師

研究者番号：80586389