

令和 2 年 7 月 2 日現在

機関番号：12602

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2019

課題番号：16K15794

研究課題名(和文) TOF-MSと電気伝導率に基づく新しい硬組織透過性定量測定法の歯科保存領域への展開

研究課題名(英文) Application of a new quantitative measurement of small molecule permeability through enamel and dentin using TOF-MS and electric conductivity to conservative dentistry

研究代表者

池田 英治 (Ikeda, Hideharu)

東京医科歯科大学・歯学部・非常勤講師

研究者番号：20222896

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円

研究成果の概要(和文)：エナメル質と象牙質を通過する物質を、飛行時間型質量分析計(TOF-MS)と電気伝導率という2方法を用いて定量測定し結果を解析した。前者で溶質成分に対して飛行時間型質量分析を用いることにより分子量の確認ができ、精密質量から組成式情報を得た。後者で電気伝導度は溶液濃度の二次関数に極めて高い相関性を示し、透過物質濃度を算出した。健全新鮮抜去智歯を用い、外側から歯髄側に通過する物質量を計測した。エナメル質が曝された物質の歯髄内進入量の定量が可能となり、ひいては漂白処置・酸処理や酸性食品が原因で生じるエナメル質、象牙質の性状変化による組織傷害性物質の歯髄内侵入量の変化を計測することができる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

エナメル質/象牙質を通過し歯髄に進入する低分子物質の定量分析を行うことは困難であった。本研究で我々はTOF-MSと電気伝導率の二つの方法を用いて、通貨物質を定量的に測定できることを明らかにした。つまり、口腔内に入る刺激物質にエナメル質が曝された時に、歯髄内に進入する物質量の定量計測ができた。この方法を応用することにより、歯科治療でエナメル質性状を化学的に変化させる漂白処置・酸処理や、酸蝕を引き起こすことが近年注目されている酸性食品が原因で生じるエナメル質と象牙質の構造変化に起因する組織傷害性物質の歯髄内侵入量の変化を定量計測し、データを基に口腔の健康を目標とした啓蒙ができると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Two methods, Time-of-flight mass spectrometer (TOF-MS) and electric conductometry, were used. The spectrometry was used to determine an ion's mass-to-charge ratio via a time of flight measurement. Electric conductometry was used to quantitatively evaluate chemical permeability through enamel/ dentin. Freshly extracted healthy molars were used to measure chemicals which passed from enamel side to pulp side for both experiments. Using TOF-MS, capsaicin and urea hydrogen peroxide could be detected. Electrical conductance correlated closely to a quadratic function of the concentration of capsaicin ($r^2 = 0.985$) or urea hydrogen peroxide ($r^2 = 0.897$). The results obtained from the present study have clarified that combined usage of the two methods enables to quantitatively measure the chemical passed through enamel, and therefore to show the effect of acid-etching, enamel bleaching and even acid food/drink on chemical pulp injury.

研究分野：歯科保存学(歯内療法学)

キーワード：エナメル質 電気伝導率 飛行時間型質量分析計 透過性 象牙質

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 我々は以前に健全エナメル質に蛍光色素の Lucifer Yellow (MW 457.2) を作用させた際に、10 分余でエナメル質 / 象牙質を経由して、象牙芽細胞とその下層の細胞の細胞膜を通過するが、分子形態の似た Dextran Lucifer Yellow (MW 約 10,000) はエナメル質さえ通り抜けることさえできないことを示した。また、通過分子の定量計測を試み、溶液の impedance を計測することで、その逆数である conductance を算出し、溶液濃度との間に 2 次関数的に極めて高い正の相関を示すことを明らかにした。

(2) Time-of-flight Secondary Ion Mass Spectrometer は、加速させた荷電粒子 (イオンまたは電子) の飛行時間を計測することにより質量電荷比を測定する飛行時間型質量分析計 (TOF-SIMS: Time-of-Flight mass spectrometer) を質量分析計に用い、試料上の原子、分子の化学情報を一分子層以下の感度で測定でき、また特定の分子や原子の分布を 100nm 以下の空間分解能で観察できる。

2. 研究の目的

物質透過後の飛行時間型質量分析計 (TOF - MS: Time-of-Flight mass spectrometer) と電気伝導率という 2 方法の結果を統合解析することにより、エナメル質 / 象牙質を通過する物質の組成式情報を明らかにし、通過する物質の定量測定を行う。

3. 研究の方法

研究内容の目的、方法を説明して同意の得られた患者方から抜歯したヒト健全新鮮抜去小白歯および智歯を研究に用いた。エナメル・セメント境で切断した歯冠測を用い、エナメル質側から歯髄側に通過する、超純水を満たしたダブルチェンバーからなる計測装置の中央部に装着した。第一に、エナメル質側チェンバーから歯髄側に通過した溶質を含んだ溶液の電気伝導度を計測することにより定量的物質質量測定を行った。第二に、歯髄側の溶質組成を TOF - MS を用いて解析した。

4. 研究成果

(1) エナメル質 / 象牙質を通過し歯髄に進入する低分子物質の定量分析を行うことは困難であった。本研究で我々は TOF - MS と電気伝導率の二つの方法を用いて、通貨物質を定量的に測定できることを明らかにした。つまり、口腔内に入る刺激物質にエナメル質が曝された時に、歯髄内に進入する物質質量の定量計測ができた。

(2) この方法を応用することにより、歯科治療でエナメル質性状を化学的に変化させる漂白処置・酸処理や、酸蝕を引き起こすことが近年注目されている酸性食品が原因で生じるエナメル質と象牙質の構造変化に起因する組織傷害性物質の歯髄内侵入量の変化を定量計測し、データを基に口腔の健康を目標とした啓蒙ができると考えられる。

< 引用文献 >

1. Ikeda H, Tokita Y, Suda H. Capsaicin sensitive Aδ fibers in cat tooth pulp. Journal of Dental Research 1997;76(7):1341-1349.

2. Ikeda H, Suda H, Rapid penetration of lucifer yellow into vital teeth and dye coupling between odontoblasts and neighboring pulp cells in the cat. *Archs Oral Biol*, 51, 123-128, 2006.
3. Ikeda H, Suda H, Facilitatory Effect of AC-Iontophoresis of Lidocaine Hydrochloride on the Permeability of Human Enamel and Dentine in Extracted Teeth. *Archives of Oral Biology*, 58 (4), 341-347, 2013. doi: 10.1016/j.archoralbio

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 田澤 建人、川島 伸之、草野 雅彦、池田 英治、興地 隆史	4. 巻 40
2. 論文標題 ラット正常歯髄におけるLYVE-1陽性マクロファージはCD163を発現する	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本歯内療法学会雑誌	6. 最初と最後の頁 7~13
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） https://doi.org/10.20817/jeajournal.40.1_7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Ganbold Khongorzul, Kakino Satoko, Ikeda Hideharu, Miyashin Michiyo	4. 巻 83
2. 論文標題 Human pulpal blood flow in different root formation stages measured with transmitted-light plethysmography	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Archives of Oral Biology	6. 最初と最後の頁 327~333
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.archoralbio.2017.08.010	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Tazawa K, Ikeda H, Kawashima N, Okiji T	4. 巻 75
2. 論文標題 Transient receptor potential melastatin (TRPM) 8 is expressed in freshly isolated native human odontoblasts	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Archives of Oral Biology	6. 最初と最後の頁 55-61
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.archoralbio.2016.12.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 3件/うち国際学会 8件）

1. 発表者名 Thaw Dar Oo, Masahiko Kusano, Satoko Kakino, Hideharu Ikeda, Takashi Okiji
2. 発表標題 Coldness changes transmitted-light plethysmography values in young adult human teeth
3. 学会等名 Japanese Association for Dental Research (66th)（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kakino S, Ganbold K, Uehara T, Inoue A, Jayawardena A, Ikeda H, Miyashin M
2. 発表標題 Pulpal circulation measurement of the luxated young permanent teeth with abnormal root formation using TLP
3. 学会等名 The 8th conference of Asian International Association of Dental Traumatology (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Ikeda H
2. 発表標題 Are odontoblasts pain receptor cells?
3. 学会等名 The 8th conference of Asian International Association of Dental Traumatology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Ikeda H
2. 発表標題 Dentin hypersensitivity from the point of view of pulpal nerves and cells -Preconception and truth-
3. 学会等名 International Federation of Endodontic Association (World Endodontic Congress) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Ikeda H, Salima A, Tazawa K, Suda H, Okiji
2. 発表標題 Quantitative Evaluation of the Effects of Etching/Whitening Materials on Enamel Permeability
3. 学会等名 日本歯科保存学会 春季大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Ikeda H, Suda H, Okiji T
2. 発表標題 Cold Stimulus Activates Ionic Channels in Freshly Isolated Human Odontoblasts
3. 学会等名 International Association for Dental Ressearch (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Tazawa K, Ikeda H, Okiji T
2. 発表標題 Immunolocalization of Lymphatic Vessels in Rat Dental Pulp
3. 学会等名 International Association for Dental Ressearch (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Ikeda H, Aierken S, Tazawa K, Suda H, Okiji T
2. 発表標題 Quantitative analysis of changes in human enamel permeability after acid-etching/ whitening procedures
3. 学会等名 International Association for Dental Ressearch. Pulp Biology and Regeneration (PBRG) Symposium (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Ikeda H
2. 発表標題 Circulation of the dental pulp
3. 学会等名 中華民國口腔医学会 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 池田 英治	4. 発行年 2018年
2. 出版社 永末書店	5. 総ページ数 288
3. 書名 第5版 エンドドンティックス	

1. 著者名 池田英治	4. 発行年 2017年
2. 出版社 医歯薬出版	5. 総ページ数 70
3. 書名 象牙質知覚過敏症 目からウロコのパーフェクト治療ガイド 第3版 富士谷盛興、千田彰 編著	

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----