

令和 2 年 5 月 21 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11951

研究課題名(和文) 複雑な乳歯根管系の制御 - 確実な歯根吸収抑制と吸収部修復機構発現の解明 -

研究課題名(英文) Control of complicated root canal system of primary teeth: Clarification of reliable method for root resorption control and repair mechanism on resorbed part

研究代表者

八若 保孝 (YAWAKA, YASUTAKA)

北海道大学・歯学研究院・教授

研究者番号：60230603

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)： 根管治療において、超音波を用いた根管洗浄方法および水酸化カルシウム製剤の貼薬が、複雑な乳歯根管系の制御に重要な要素であることが把握された。

ラットを用いた動物実験系において、臼歯の歯根外部吸収モデルを構築し、歯根吸収に対する水酸化カルシウム製剤の効果を組織学的に観察した。水酸化カルシウム製剤の効果により、歯根外部吸収は抑制されること、セメント質の添加が生じることが明らかになった。これは、歯根吸収部の修復機構発現の一つと考えられた。細胞培養系においては、歯根吸収モデルを作製することができたが、再現性の問題から、水酸化カルシウム製剤の効果を検索するところまでは至らなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

乳歯の根管治療は、その複雑な根管系により難しいといわれている。今回の研究成果により、難しいといわれている乳歯根管治療の予後向上の可能性が示された。小児における齲蝕は減少傾向にあるとはいえ、根管治療が必要となる重篤な齲蝕や外傷は存在しており、健全な成長発育を理想とする小児において、口腔機能の維持増進は重要な点の一つである。この口腔機能の維持増進は、健全な歯、歯列、咬合が必須であり、その点からも、大きな意義を有する結果となった。

研究成果の概要(英文)： Regarding the root canal treatments, it was showed that the important factors of the control of complicated root canal system of primary teeth were the root canal irrigation with ultrasonic and the root canal medication by calcium hydroxide (Ca(OH)<sub>2</sub>).

We constructed a root resorption model in rat molar in animal experiment, and observed histologically the effects of Ca(OH)<sub>2</sub> on root resorption. The effects of Ca(OH)<sub>2</sub> showed inhibition of root resorption and occurrence of cementum deposition. We think cementum deposition is one of repair mechanisms on resorbed part.

We could construct a root resorption model in cell culture. But we do not reach the step as to investigate effects of Ca(OH)<sub>2</sub> due to bad reproducibility.

研究分野：医歯薬学

キーワード：歯学 乳歯 根管治療 根管洗浄 水酸化カルシウム製剤 pH 歯根吸収

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

乳歯の根管治療は、複雑な乳歯根管系により永久歯と比較して十分な根管治療は不可能とされている。具体的には、側枝、副根管、槌状根管の存在、歯根および根管の彎曲、圧平などにより、十分な根管拡大ができないこと、後継永久歯が乳歯歯根に近接して存在すること、生理的歯根吸収が生じること、その生理的歯根吸収を妨げないため根尖部の封鎖ができないことなどの制約が存在する<sup>1)</sup>。小児歯科臨床では、根管拡大の制限など、条件付きでの対応がなされており、水酸化カルシウム製剤の根管充填、根管貼薬への応用が一般的となっている。永久歯において、感染根管におけるバイオフィルムや根管治療後のスメア層に対する有効な根管洗浄方法や水酸化カルシウムの根尖からの拡散などの研究が報告されている<sup>2)</sup>。しかし、乳歯における同様な根管治療に関する研究はほとんど認められない。しかし、根管治療の成否により乳歯が保存不可能になる場合は、小児の健全な成長発育に対しては大きなマイナス要素となる。

申請者は、これまでに生理的および病的歯根吸収を組織学的に研究し<sup>3,4)</sup>、乳歯の根尖性歯周炎における根管の細菌分布は、永久歯と異なり、根管内および根管壁に局限していること、病的歯根吸収が無秩序に生じること、病的歯根吸収部位にセメント質が添加し歯根形態の修復が生じること(図1)などを解明した。また、永久歯および乳歯に関する有効な根管洗浄法に関する研究を行い、永久歯では、次亜塩素酸ナトリウムと EDTA を用いた超音波洗浄が、根管壁のスメア層の除去および象牙細管の開口に有効であるのに対し、乳歯では、次亜塩素酸ナトリウムのみを用いた超音波洗浄が、最も有効であることを明らかにした(図2)<sup>5)</sup>。さらに、良質な根管洗浄により、歯根外部吸収部へアルカリ性の拡散が認められることを明らかにした。しかし、現時点では乳歯の根管治療に確実な方法は存在しないといえる。これまでに得た情報を基礎に、良好な予後が確実に達成できる乳歯の根管治療法の開発は、乳歯の保存につながり、小児の成長発育において、きわめて大きな影響を与えることができる。



図1 根尖性歯周炎を有した乳歯根尖部の構造(組織切片より三次元構築した画像)

- a: 象牙質歯根吸収面 複雑な吸収面を呈する。 b: セメント質面 比較的平坦な曲面を呈する。  
c: セメント質を透過性にした像 セメント質添加により歯根形態が修復されている。

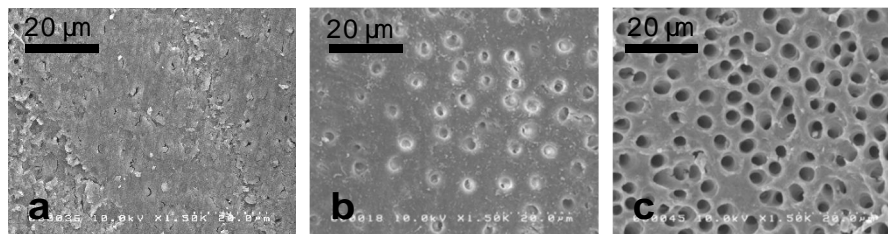


図2 乳歯歯根中央部根管内壁(SEM像)

- a: NaOCl と H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> の交互洗浄(シリンジ使用) スメア層で象牙細管は観察されない。  
b: NaOCl の超音波洗浄 スメア層が除去され、象牙細管が明瞭である。  
c: EDTA の超音波洗浄 NaOCl の超音波洗浄 スメア層は除去されているが、歯質が過度に脱灰されている。

## 2. 研究の目的

重篤な根尖性歯周炎や外傷により乳歯歯根の異常吸収が生じ、根管治療を実施しても歯根吸

収の存在により予後不良で抜歯となる症例が存在する。研究の目的は、良好で確実な予後を獲得するための乳歯の根管治療法を開発するものである。そのなかで本研究は、ラット根尖性歯周炎での貼薬剤の効果、および培養系での破歯細胞に対する貼薬剤の効果을把握し、有効な根管貼薬方法を確立することである。

### 3. 研究の方法

#### (1) ラット臼歯における歯根吸収抑制効果の検索

##### ラット臼歯歯根外部吸収モデルの作製

生後6週齢のSD系雄性ラットの上顎第一臼歯を使用する。実験的に左右の上顎第一臼歯を抜去し、1時間乾燥状態に置き、同部位に再植を行う。再植4週間飼育し、再植歯に歯根外部吸収が生じることを、同部位の組織学的観察で確認した。

##### 根管治療

左右どちらかで次亜塩素酸ナトリウムで根管洗浄のみを実施し再植を行った群をコントロール群とし、反対側については、ただちに根管治療および水酸化カルシウム製剤による根管充填を実施し再植を行った群を実験群とした。再植後2週間飼育した。

##### 組織学的観察

ラット上顎第一臼歯およびその周囲を試料として使用する。再植2週後、還流固定を行い、同部位を摘出し、ラット歯根の変化（根吸収の停止、修復機構の発現など）を光学顕微鏡下で組織学的に観察した。特に、歯根吸収病変および同部位の修復状態について、歯根だけでなく歯槽骨、歯根膜を含めた領域に対し、両群を比較して組織学的検索を行った。

#### (2) 培養系におけるヒト乳歯に対する吸収抑制効果の検索

##### 培養系歯根吸収モデルの作製

北海道大学病院歯科診療センター小児・障害者歯科で抜去した乳歯ならびに学生実習用に収集した抜去乳歯に対し、根管拡大を行い、次亜塩素酸ナトリウムと超音波治療器による根管洗浄を行い、根管試料を作製する。試料の歯根表面の軟組織を除去し、さらに培養に用いる部分のセメント質も除去し、象牙質を一部露出させる。露出させた象牙質部を研磨調整し、平坦な面を作製し、同部をEDTAおよび次亜塩素酸ナトリウムで表面処理を行った。

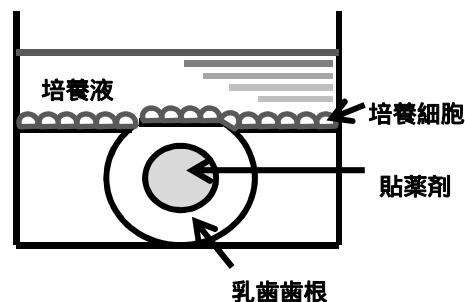


図3 培養系歯根吸収モデル

作製された根管試料に対し、各種水酸化カルシウム製剤、ガッタパーチャポイントを用いて根管充填を行い、その後、根尖と根管口を接着性レジンで封鎖した。この試料を培養に用いた。培養ウェルの中央に歯根象牙質が一部露出するようにした培養環境を確立させ（図3）培養系における歯根外部吸収モデルを作製した。

##### 細胞培養

培養ウェルの中央に露出した試料がある状態で、骨芽細胞様細胞 MC3T3-E1 細胞(E1細胞)を播種し、vitamin C および  $\beta$ -グルタミン酸を付加した  $\alpha$ -MEM により、CO<sub>2</sub> インキュベーターを使用して、細胞培養を行った。その後、マウス大腿骨から得た骨髄幹細胞と共存培養を行い、培養条件下での歯根吸収を誘導した。試料の吸収状態について、酒石酸耐性酸フォスファターゼ活性を利用したデジタルマイクロスコープによる観察で、培養破骨細胞の大きさ、出現度、出現分布を明らかにし、写真撮影を行った。

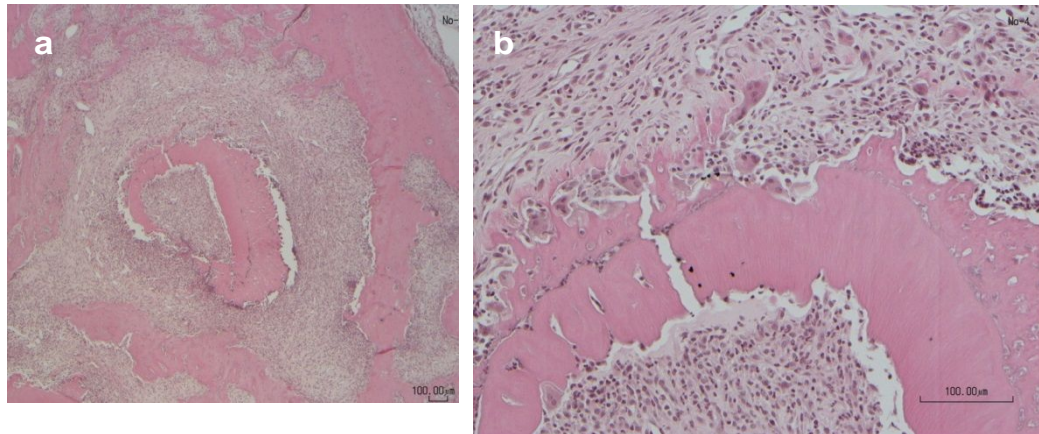
#### (3) 統計

得られた結果に対し、Bonferroni's test を使用した。有意水準は  $p < 0.05$  とした。

### 4. 研究成果

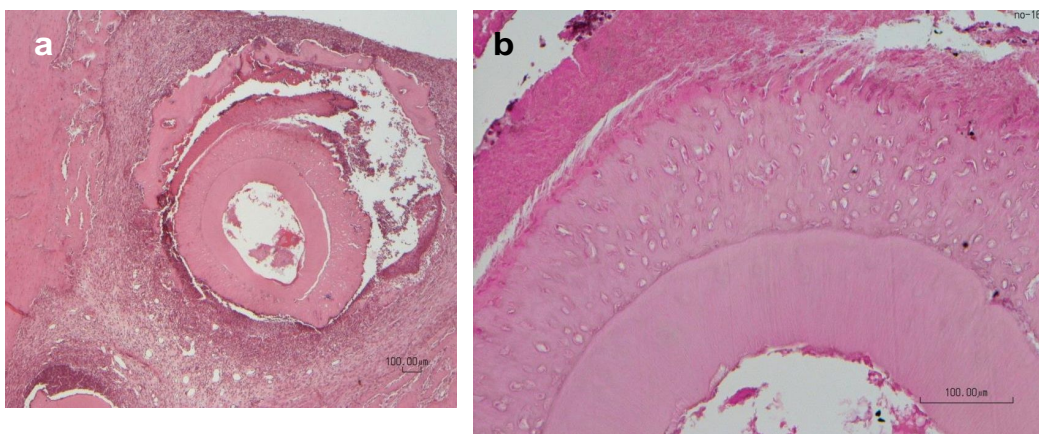
#### (1) ラット臼歯における歯根吸収抑制効果

コントロール群では、H-E 染色にて多核巨細胞を認め、酒石酸耐性酸フォスファターゼ( TRAP ) 活性染色にて破歯細胞であることを確認した。実験群では、コントロール群と比較して、歯根の吸収窩、破歯細胞ともに減少を示した( 図 4 , 5 )。また、歯根表面の一部のセメント質添加による肥厚が観察された。残存歯根面積において、コントロール群と実験群との間に有意差を認めた ( $p < 0.01$ )。以上のことから、水酸化カルシウム製剤の効果により、歯根吸収は抑制されたことが示された。



**図 4 歯根吸収状態(コントロール群; H-E 染色)**

- a: 弱拡大 著明な歯根吸収により、歯根形態はいびつになり、残存歯根量(面積)が減少している。  
 b: 強拡大 多数の吸収窩が歯根表面に認められ、セメント質が観察されない部分も認められる。多核巨細胞(破歯細胞)が歯根周囲に多数観察される。



**図 5 歯根吸収状態(実験群; H-E 染色)**

- a: 弱拡大 著明な歯根吸収は認められない。  
 b: 強拡大 吸収窩は認められず、比較的一定した厚みの象牙質が観察される。セメント質も同様である。多核巨細胞(破歯細胞)が歯根周囲に観察されない。

## ( 2 ) 培養系におけるヒト乳歯に対する吸収抑制効果

培養系歯根吸収モデルを作製し、細胞培養を行った。しかし、歯根吸収の誘導に関して、水酸化カルシウム製剤を用いた群とガッタパーチャポイントを用いた群における TRAP 活性に差異は認められず、さらに試料により、大きなばらつきを認めた。そのため、再現性に問題があると判断し、実験を中止した。現在、この原因を究明している段階である。

## ( 3 ) 乳歯歯根吸収の制御

培養系の実験は残念ながら十分ではなかったが、これまで得られた結果から、NaOCl と超音波を使用した根管洗浄によりスミア層を除去し、象牙細管を開口させ、貼薬剤である水酸化カルシウム製剤の拡散により、歯根吸収を抑制できることが示された。先の研究で、親水性の水酸化カルシウム製剤の方が、疎水性の水酸化カルシウム製剤より歯質での拡散が速いことが示

されている<sup>5)</sup>。これらの事より、まず親水性の水酸化カルシウム製剤の貼薬により、歯根吸収を速やかに抑制し、その後疎水性の水酸化カルシウム製剤の貼薬により、歯根吸収抑制状態を維持することで、より良い予後が得られることが予想される。

<引用文献>

- 1) 神山紀久男：乳歯・幼若永久歯の解剖学的特徴 - 特に歯髓腔の形態 - . 歯科ジャーナル , 23:437-446, 1986 .
- 2) Clegg, M.S. , Vertucci, F.J., et al.: The effect of exposure to irrigant solutions on apical dentin biofilms in vitro. J.Endod., 32:434-436, 2006 .
- 3) Yawaka, Y. , Osanai, M. , Shirai, Y. , Hasegawa, T. , Kaga, M. , Oguchi, H.: Resorption of human deciduous root with apical periodontitis by cultured osteoclasts . Ped.Dent.J. , 14 : 121-126, 2004 .
- 4) Yawaka, Y. , Osanai, M. , Akiyama, A. , Harada, R. , Oguchi, H.: Histological study of deposited cementum in human deciduous teeth with pathological root resorption . Ann.Anat. , 185 : 335-341, 2003 .
- 5) 豊田有希 , 吉原俊博 , 八若保孝 : 各根管洗浄法の洗浄効果と水酸化カルシウム製剤による水酸化物イオンの拡散 . 北海道歯誌 , 34:53-64, 2013 .

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Akina Hisada, Koichi Nakamura, Yuki Toyota, Ayako Maeda, Toshihiro Yoshihara, Yasutaka Yawaka	4. 巻 29
2. 論文標題 Effects of root canal irrigations on intracanal medication with calcium hydroxide effects in root external resorption models	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Pediatric Dental Journal	6. 最初と最後の頁 17-22
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） <a href="https://doi.org/10.1016/j.pdj.2018.10.003">https://doi.org/10.1016/j.pdj.2018.10.003</a>	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 Yasutaka Yawaka, Yuki Toyota, Akina Hisada, Ayako Maeda, Shohei Inoue, Toshihiro Yoshihara	4. 巻 38(Special Issue)
2. 論文標題 Root canal treatment of traumatized permanent teeth with external root resorption	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Hokkaido Journal of Dental Science	6. 最初と最後の頁 122-129
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 八若保孝	4. 巻 36(4)
2. 論文標題 もう慌てない！ 幼児期の口腔外傷	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 ザ・クインテッセンス	6. 最初と最後の頁 68-84
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 0286-407X	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 Yuki Toyota, Toshihiro Yoshihara, Akina Hisada, Yasutaka Yawaka	4. 巻 27
2. 論文標題 Removal of smear layer by various root canal irrigations in primary teeth.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Pediatric Dental Journal	6. 最初と最後の頁 8-13
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） <a href="http://dx.doi.org/10.1016/j.pdj.2016.05.001">http://dx.doi.org/10.1016/j.pdj.2016.05.001</a>	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 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Yasutaka Yawaka
2. 発表標題 Root canal treatments with ultrasonic device of traumatized permanent teeth with external root resorption
3. 学会等名 The 1st National Conference of Indian Society of Dental Traumatology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yasutaka Yawaka
2. 発表標題 Root Canal Treatments of Traumatized Permanent Teeth with External Root Resorption
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

〔図書〕 計0件

〔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
研究分担者	中村 光一  (Nakamura Kouichi)  (50580932)	北海道大学・歯学研究院・助教    (10101)	