

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：32667

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2023

課題番号：18K17078

研究課題名（和文）pulp revascularizationの新生組織形成機構の免疫組織学的解析

研究課題名（英文）Immunohistological analysis of newly formed tissue by pulp revascularization.

研究代表者

湊 華絵（Minato, Hanae）

日本歯科大学・新潟生命歯学部・非常勤講師

研究者番号：70803112

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：Pulp revascularizationとは歯根の成長途中の永久歯に行う治療法である。この方法を施術することにより、従来の治療方法では得られなかった歯根の成長と歯の厚みを得ることができるといわれている。本研究では施術後の長期例を観察し、より長期になるほど歯根の成長と歯の厚みを得ることを確認した。根管の中は骨様硬組織で満たされており、一部に新しくつくられた血管もみられた。根管の中に新しくつくられた組織の形態は複雑なため、今後は骨様硬組織や血管の由来を調べる必要がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歯根の成長途中の永久歯では従来の歯の治療による歯根の破折などのリスクがある。破折は歯の生存率に大きく関与するため新しい根管治療が模索されていた。本研究により pulp revascularizationを施術することで短期間だけではなく長期間にわたって歯根の成長、肥厚を得られることや根管内の大部分は骨に類似した組織ができることから、歯根の破折はしにくくなると考えられる。一方でpulp revascularization後にする歯の修復物は長期例で脱離することが多く、修復物の選択も重要と考える。

研究成果の概要（英文）：Pulp revascularization is a treatment that is performed on permanent teeth that are still growing. By using this method, you can get the growth of the root and the thickness of the tooth. This study confirmed that the longer the observation period, the more likely it was to obtain root growth and tooth thickness. The inside of the root canal was filled with bone-like hard tissue, and some of the blood vessels were newly formed. Since the morphology of the newly tissue in the root canal is complex, it is necessary to investigate the origin of bone-like hard tissues and blood vessels in the future.

研究分野：歯内療法学

キーワード：revascularization MTA rat

## 1. 研究開始当初の背景

歯根未完成歯では通常の根管治療が施せず困難とされていた。その理由として歯根形成途中であるため根管形成を適切に施せないこと、また根尖孔の開大のため緊密な封鎖が出来ないなどがあげられる。そのため歯根未完成歯の生活歯ではアペキソゲネーシスにより歯根の生理的な成長を行い、失活歯ではアペキシフィケーションにより根尖孔の封鎖後に根管充填が施される。しかし、アペキシフィケーションでは、セメント芽細胞や骨芽細胞により、セメント様硬組織あるいは骨様硬組織で根尖部が閉鎖されるが、歯根は成長せず、根尖付近の根管壁は菲薄なまま残存するため、その後長期間にわたる咬合力等により歯根破折の危険を伴うことが指摘されている。一方、歯髄再生療法の1つである pulp revascularization は根管を血液で満たし、血餅を作製し、この血餅をスキャフォールドとして歯髄血流の再生を促す術式であり、象牙芽細胞への分化誘導、根管壁の新生が期待される。

## 2. 研究の目的

(1) pulp revascularization 例において根管内に硬組織が形成されることは確認しているが<sup>1)</sup>、長期間の観察例がないため、長期間の症例における pulp revascularization を用いた場合の根管内および根尖歯周組織の創傷部を組織学的に観察することを目的とした。

(2) コントロール群の他に根管洗浄時に EDTA 溶液を使用した群 (EDTA 群) と EDTA 溶液の非使用群 (非 EDTA 群) を用意し、洗浄液が根管内の新生組織の機構に影響を及ぼす可能性についての検討を行う。

## 3. 研究の方法

(1) 本研究は生後6週齢の雄性ラットの根未完成永久歯に pulp revascularization を施し、術後長期間の根管内と根尖歯周組織の組織学的解析を行うことを目的としていることから、術後8週から1年間までの術後経過期間を必要とする。

(2) 生後5週齢の Wistar 系雄性幼若ラットを入手し、1週間の予備飼育を行った。生後6週齢でラットの上顎右側第一臼歯を実験に用いた。全身麻酔を施した後、バイタルサインモニター上に固定し、バイタル管理下で実験を行った。手術用マイクロスコープを使用し、ラット用クランプでラバーダム防湿を施し、ダイヤモンドポイントにて髓室を開拡し、作業長 3.5mm で NiTi ファイルをエンド用モーターに取り付け根管拡大を行う。根管内を生理食塩液で洗浄し、#20 ペーパーポイントで根管内を乾燥する。近心根管内に根管内容物がなく、止血していることを確認する。コントロール群では裏層、充填を行う。EDTA 群は EDTA を 1 分根管内に満たし、生理食塩液で洗浄、乾燥後に、#10 の H ファイルを根尖孔外に約 1 mm 突き出し、根管口部まで血液を満たし、裏層、充填を行う。非 EDTA 群は生理食塩液でのみ洗浄し、以後の操作は EDTA 群と同様にする。

(3) 各実験群は術後 8 週、12 週、24 週後に灌流固定し、通法に従ってパラフィン包埋した後連続切片を作成した。HE 染色を施し、観察を行った。

#### 4. 研究成果

(1) 術後8週において、コントロール群のすべてで根管内に血管を伴う線維性結合組織の増生がみられ、いずれも線維性結合組織であった。またすべてでセメント質と連続した骨様硬組織が根尖孔から根管中央までの根管壁に沿って観察され、根尖孔の狭窄がみられた(図1A)。非EDTA群のすべてで歯頸部付近までの根管内の広範囲にセメント質と連続した新生硬組織が観察され、その中に新生血管を含む線維性結合組織がみられた。根尖部はセメント質と骨様硬組織の形成が著しく、根尖孔の狭窄がみられた(図1B)。ほとんどのEDTA群で歯頸部付近までの根管内の広範囲にセメント質と連続した新生硬組織が観察され、その中に新生血管を含む線維性結合組織がみられた。根尖部はセメント質と骨様硬組織の形成が著しく、根尖孔の狭窄がみられた(図1C)。コントロール群と比べて非EDTA群、EDTA群では広い範囲で硬組織形成がみられたことから、根管内を血餅で満たすことで新生硬組織の形成が促進されることが考えられる。また根管口部の硬組織形成が非EDTA群とEDTA群にみられたことから、MTAを貼付することにより根管口部の石灰化が促進され、硬組織の形成に参与した可能性が示唆された。非EDTA群、EDTA群のpulp revascularizationを施した群は、コントロール群と比較して根尖部から根管口部までの広範囲に大量の骨様硬組織が形成され、根尖歯周組織に炎症所見がみられなかったことから、歯根未完成歯の根管治療法としての有用性が期待されることが示唆された。

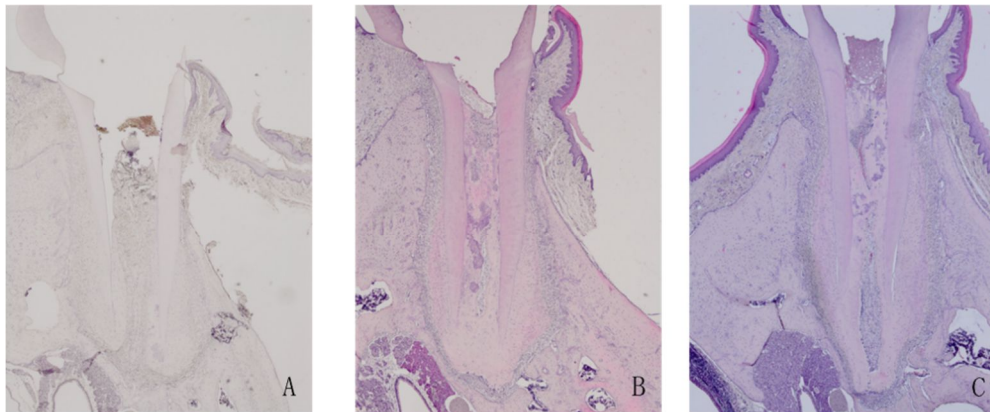


図1 術後8週 (A:コントロール群、B:非EDTA群、C:EDTA群)

(2) 術後12週においてコントロール群では根管の一部に線維性結合組織がみられ、根尖部にはセメント質と連続した骨様硬組織による根尖孔の狭窄もみられた(図2A)。非EDTA群では歯頸部までの根管内の広範囲にセメント質様もしくは骨様硬組織が観察され、その中に新生血管を含む線維性結合組織がみられた。根尖部では歯根の伸長と根尖孔の狭窄がみられ、根尖部から歯根中央部付近の根管内で硬組織に沿ってHE染色に好染色の細胞の規則的な配列も観察された(図2B)。EDTA群では歯頸部までの根管内の広範囲にセメント質様もしくは骨様硬組織が観察され、その中に新生血管を含む線維性結合組織がみられた。根尖部では歯根の伸長と根尖孔の狭窄がみられた(図2C)。非EDTA群、EDTA群のpulp revascularizationを施した群は、コントロール群と比較して根尖部から根管口部までの広

範囲に大量の骨様硬組織が形成され、歯根の伸長もみられた。また根管内に新生血管もみられたことから、歯根未完成歯の根管治療法としての有用性が期待されることが示唆された。

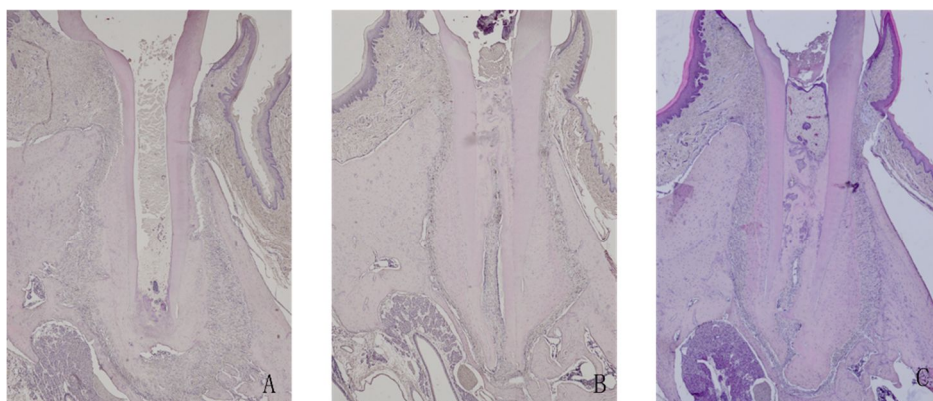


図2 術後12週 (A:コントロール群、B:非EDTA群、C:EDTA群)

(3) 術後 24 週では半数以上の個体で修復物脱離または歯根破折がみられた。1 例としての観察は可能であるが、群としての評価が困難である。また術後 48 週ではすべての個体で修復物脱離または歯根破折がみられた。歯根破折の原因として修復物脱離が影響していると考えられる。Pulp revascularization における歯冠修復物の選択は検討する必要があると考える。

(4) HE 染色では非 EDTA 群および EDTA 群は術後 8 週、術後 12 週において類似した組織形態であった。今後、免疫染色による詳細な組織形態の観察をする必要がある。

#### <引用文献>

湊 華絵, 北島 佳代子, 新井 恭子, 五十嵐 勝、ラットの歯根未完成臼歯の抜髄後に行ったリバスクリレーション、日本歯科保存学雑誌、62 巻 1 号、2019、27-38

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 湊 華絵、清水公太、山田理絵、新井恭子、佐藤友則、北島佳代子、五十嵐 勝
2. 発表標題 ラット歯根未完成歯の抜髄群とリバスクラリゼーション群の組織学的観察－第2報－
3. 学会等名 日本歯科保存学会2020年度春季学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 湊 華絵、清水公太、新井恭子、佐藤友則、北島佳代子、五十嵐 勝
2. 発表標題 ラット歯根未完成歯リバスクラリゼーションにおける 象牙芽細胞様細胞の新生と硬組織形成の可能性
3. 学会等名 第41回日本歯内療法学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 湊 華絵、清水公太、山田理絵、新井恭子、北島佳代子
2. 発表標題 ラット歯根未完成歯の抜髄例とリバスクラリゼーション例の組織学的観察
3. 学会等名 日本歯科保存学会2019年度春季学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 清水公太、湊 華絵、山田理絵、新井恭子、北島佳代子
2. 発表標題 ラット歯根未完成歯に内部吸収を生じたリバスクラリゼーションの1例
3. 学会等名 第40回日本歯内療法学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 湊 華絵、鎗田将史、新井恭子、佐藤友則、両角俊哉、北島佳代子
2. 発表標題 ラット歯根未完成歯の抜髄群とリバスクラリゼーション群の組織学的観察－第3報－
3. 学会等名 日本歯科保存学会2023年度秋季学術大会
4. 発表年 2023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

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関