

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2023

課題番号：19K10144

研究課題名(和文) 活性型リン酸カルシウム噴射による生物学的象牙質改質法

研究課題名(英文) Processing of surface modification for reinforcement of dentin by using active calcium phosphates.

研究代表者

石幡 浩志 (Ishihata, Hiroshi)

東北大学・歯学研究科・助教

研究者番号：40261523

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：歯科治療において、う蝕あるいは歯冠修復のためにエナメル質、象牙質が削除され、材料に置換される標準治療は歯髄への影響は避けられない。象牙質には僅か直径約2 μ mの象牙細管で生じる細管内液の動態が直接観察されておらず、活動の実態が見えないため、その生理学的実態が考慮されていなかったためである。そこで本研究ではこれまでにない高感度かつ定量的な象牙質透過性計測法を確立した上、それを利用した象牙質改質法の確立を試みた。高感度の極微量リアルタイム流量センシング法として、歯科用浸潤麻酔用注射針を応用した極めて高感度のフローセンサーを考案、これが象牙質改質法の確立に有意義であることを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

象牙質に対する生体組織としての機能を詳らかにするため、象牙質組織内に生理的活動が存在することを端的に顕すリアルタイム確立したことで確立したことで、生体組織に対する適用に相応しい材料を見いだす上で最適な評価法を確立できた。これは歯科臨床におけるミニマルインターベンションの観点からも意義深く、特に象牙質知覚過敏症治療法の発展と、象牙質改質による歯の長寿命化に寄与すると考えられる。高感度の流路センサーを低コストで製作出来る手法の考案は、当研究課題における象牙質透過性の定量計測に有用であった。さらに各種の微量のフロー計測にも利用できる汎用性についても有意義であろう。

研究成果の概要(英文)：On dental therapy, the enamel and dentin are sometimes eliminated and replaced to dental materials for caries treatment or crown restoration, but these treatments inevitably have an impact to the dental pulp. The dynamics of the intratubular fluid generated in the dentinal tubules, which are only about 2 μ m in diameter, have not been directly observed in dentin, and the actual activity cannot be seen, so the physiological actual situation has not been taken into consideration. Therefore, in this study, we established an unprecedented highly sensitive and quantitative method for measuring dentin permeability, and attempted to establish a dentin modification method using this method. As a highly sensitive, extremely small volume real-time flow sensing method, we devised an extremely sensitive flow sensor that applies a dental infiltration anesthesia injection needle, and confirmed that this is significant for establishing a dentin modification method.

研究分野：歯内療法学

キーワード：象牙質 知覚過敏 象牙細管 透過性 アパタイト前駆体 フローセンサー 極微量流量

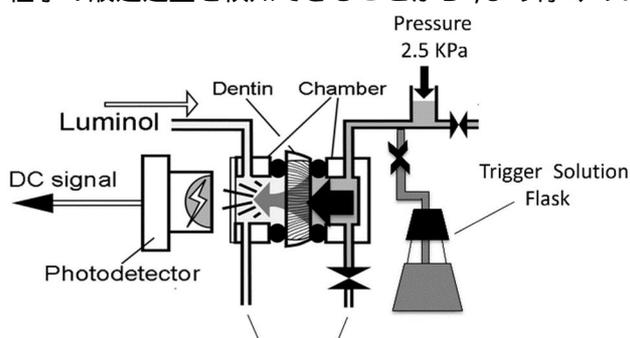
様式 C - 19 , F - 19 - 1 , Z - 19 (共通)

1 . 研究開始当初の背景

ひとたび萌出した歯は、口腔内の激しい温度変化、物理的外力、乾燥、そして絶え間ない pH 変動に晒される。にもかかわらず、日々のスキンケアのようなトリートメントは望めず、不適切なブラッシングに晒され、歯の摩耗と歯肉退縮により象牙質知覚過敏症(DH)を引き起こす、やがて慢性辺縁性歯周炎や加齢により象牙質が露出すれば、アパタイトとコラーゲン変性が加速して微細な亀裂や欠陥が生じ、根面う蝕、ひいては歯の破折につながる。その根本原因は、象牙質は、皮膚などと同じコラーゲンが主成分で、生物学的には他の組織と差が無く、耐久性もさして変わらないにもかかわらず、生体組織として相応しい視点が与えられて来なかったためと思われる。

歯科治療において、う蝕あるいは歯冠修復のためにエナメル質、象牙質が削除され、材料に置換される標準治療は、ミニマムインターベーションに配慮しても歯髄への影響は避けられない。歯髄の病的反応の殆どが象牙質に起因するのにもかかわらず、症状が顕在化するまで象牙質には何ら配慮は無い。例えば、象牙細管内液の急速移動で生ずると考えられる象牙質知覚過敏症(DH)では、象牙質にこれと言った変性を見いだせないし、歯肉退縮で著しい象牙質露出が生じても必ずしも DH は表れないといった病態再現性の乏しさもあり、治療できる組織として扱われなかった。僅か直径約 2 μm の象牙細管で生じる細管内液の動態が直接観察されておらず、活動の実態が見えなかったためであろう。

そこで我々は象牙質透過性と生理的機能の関連性を探査すべく、Pashley の split chamber 法を基に、化学発光を利用したより高感度の象牙質透過性計測装置を開発(図 1)した。これにより極小の液透過量を検知できることから、より厚みのある象牙質を用い、生体に近い状況を再現した上で透過性計測を実施した(Ishihata et al. *Am J Dent.* 2009)。



その結果、象牙質透過性は象牙質表層部で制御される一方、象牙細管封鎖による知覚抑制は、表層部だけの封鎖では効果が限定的で、より深層における封鎖物の生成が、持続的な知覚抑制効果を発揮し得ることを見出した(Ishihata et al. *J Appl Oral Sci.* 2011)。

図 1 : 光化学発光を利用した象牙質透過量計測法。

象牙質スライスの歯髄側より化学発光を励起するトリガー液が透過し歯冠側に達することでルミノール反応が生じ、透過量に比例して発光量が增大する。

以上の知見は、象牙細管内液の移動は表層の象牙細管封鎖だけでは不十分であり、象牙質表面への温度刺激により、閉じられた象牙細管内液も急速移動が生じ得る。これは現在の DH 標準治療である象牙細管開孔部の封鎖が 100%奏功しない理由とみられる。この現象はまた、エナメル

質に作用させた漂白処置後の DH 症状を原因の可能性があり、象牙細管内液移動が生じやすい、不安定な状態が疑われる。生活歯は萌出後も管周象牙質の石灰化が進行し、象牙質耐酸性が向上するのは細管構造の維持によるもので、その恒常性が破綻すれば、歯質劣化に向かうと考えられる。ゆえに、このような象牙質特有の組織構造に因る物理的および生理学的性質を理解した上で、それを持続的に維持する方策を検討することが理に適うと考えられる。

2 . 研究の目的

研究代表者による以上の研究報告により、象牙質透過性の変化が象牙質組織の劣化に關与している可能性が示唆されている。本研究は、DH が象牙質の物理的劣化の端緒となる可能性に着目、DH 療法により象牙質改質・強化を図る事を目的として、その評価を前提に象牙質透過性の精密計測法を確立し、そこで得られた象牙質透過性の特徴を把握することで、象牙質組織劣化のメカニズムを解明する。その上で長寿社会の隘路として注目される歯質劣化の課題解決へ向け、歯の機能を持続的に維持するため、従来のチェアサイドにおける歯の修復や表面処理にとどまらない、歯質を強化する新たなケアマネジメントを確立し、歯の寿命向上へのスキームを探るものである。

3 . 研究の方法

歯質強化の鍵となる技術として、我々は象牙質の生理現象を表す象牙質透過性に注目した。象牙質透過性はブラッシング、歯周病による歯肉退縮、酸蝕症の他、スケーリング、ルートプレーニングや漂白処置といった歯科治療でも変調する。特にグルタルアルデヒドやシュウ酸などの非生物学的材料は、一時的には象牙質透過性を抑制し、DH に効果を表すが、長期的には象牙質の劣化につながっているかもしれない。

(1)象牙質透過性計測システムの構築

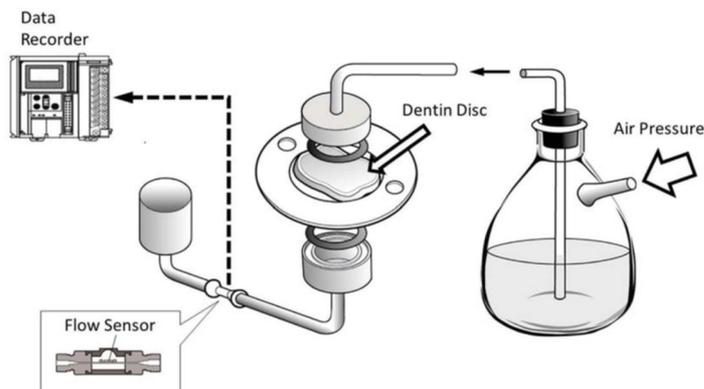


図2：象牙質液透過量の定量的計測

象牙質切片中を通過する液量を Flow sensor で計測するシステム。象牙質改質材を塗布した際の象牙質透過性をリアルタイムで定量計測する。

も効果が同等であること(Ishihata et.al.J. Appl. Oral Sci. 19:147,2011.)から、象牙質知覚過敏症治療材の有効化には、材料の性状に関わらず、たとえ薄膜でも象牙質マトリクスと強固に接合し、かつ細管内に進入した状態が維持される期間に依存する事を念頭に、適用後の効果が評価されるよう、試験材料の適用法と、製作した計測システムによる判定時期を検討した。

(2)適用材料の検討と適用方法

臨床応用を念頭に、適用材料としてアパタイト前駆体とそのキャリアとなる粉体材料を選定した。主材料は TTCP/DCPA(ティースメイト・ディセンシタイザー®：クラレノリタケ製)とし、これを空気圧による粉体噴射(エアフロー)にて象牙質表面に適用するためのキャリアとして、乾燥寒天粒子を選定した。また、粉体の粒径に最適化した高速噴射装置を検討した。噴射装置として、エアコンプレッサーからの空気圧 300kPa の給気を得て、主材料を含むキャリアを送出するため、歯科治療用のプラスチック製ノズルを採用した。以上の試験用システムを用いて、象牙質試料を対象とした *in vitro* における実験系を確立した。

4. 研究成果

(1)象牙質透過性の定量的計測法の確立

市販の Flow sensor(LG16-0150 Sesirion AG)を用いた歯冠部象牙質(厚さ 1mm)に対する計測において、象牙細管を通過した液量を持続的に定量計測することが可能であった(図3)。複数試料のうち、比較的透過性の高いもので安定した計測可能であったが、象牙質にはセンサーの計測限界(50nl/min)を下回る液透過量の小さい試料もあり、全ての象牙質に対する透過液量を計測するには至らなかった。

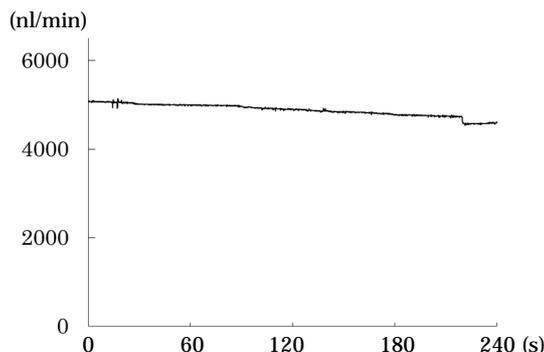


図3：Flow sensor による透過性計測

Flow sensor で計測した。split chamber により象牙質を透過する液量をリアルタイム計測した。この計測例では透過性が比較的高く、約 5000nl/min の透過量が 3 分以上検知された。

(2)アパタイト前駆体適用による象牙質透過性への影響

透過液量が安定計測された試料に対して、DH 治療材であるアパタイト前駆体を塗布した直後の透過液量は劇的に低下し、その多くはセンサーの検出限界以下となった。アパタイト前駆体による象牙細管閉鎖効果は短期的には顕著であった。一方で適用材がアパタイトに変換することで見込まれる象牙質改質効果については、透過性計測が適用材料を排出する可能性を考慮すると、透過性の高い象牙質試料のみで評価する事は妥当とは言い難い。そこで象牙質改質効果を評価する計測の際は、透過性が低い試料についても計測を可能とする必要性が顕在化した。

(3)全ての象牙質透過性計測に対応する極微量 Flow sensor の創出

あらゆる象牙質試料に対する透過性を計測するために、市販センサーより計測感度が大幅に向上した定量計測センサーを製作した。極微量の液フローを定量計測するセンシングとして、流

体の温度差を検出する手法が有用と見られる。この方法は流体管の一点を加熱した際に、フローの上流と下流に温度差が生ずる現象を検出するものである(図4)。近年の電子素子微小化によって極めて小さいサーミスタの利用が可能となっている一方で、微量なフロー計測には流路径が小さい一方、抵抗が少ないようセンサー部位の管路は短いのが望ましい。

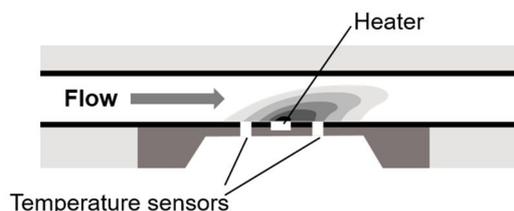


図4：超微量流量に対する定量的計測法
Flow sensing 計測では、管路の一点にヒータを設置し加温した際に、フローの上下流間に温度差が現れることを利用し、流量を定量的かつリアルタイムに計測する。センシングは流速に依存するので、管路が細径化するほど検出感度は向上する一方、細径化した管路の確保が課題であった。

センサーの製作にあたり、まずは管路としてパッチクランプ用のガラス細管製作法を応用したセンサーを製作した。しかし結果的にガラスの低い熱伝導率がハードルとなり、サーミスタによるセンシング能が発揮出来なかった。そこで熱伝導率の高い金属管を引き延ばし、あるいはプレスして細径化する事を試みたが、安定した細管を生成するのが困難であった。様々な管路を検討した結果、最後に注目したのは意外にも身近にあった歯科浸潤麻酔用の細径針である。この管を利用したところ、高価な市販のセンサーを上回る流量感度を得ることができた。高感度の流路センサーを低コストで製作出来る手法の考案は、当研究課題における象牙質透過性の定量計測に有用であった。さらに各種の微量のフロー計測にも利用できる汎用性についても有意義と考えられる。

【主な発表論文等】

1. Oguro S, Ota H, Yanagaki S, Kawabata M, Kamada H, Omata K, Tezuka Y, Ono Y, Morimoto R, Satoh F, Toyama H, Tanimoto K, Konno D, Yamauchi M, Niwa Y, Miyamoto H, Mori K, Tanaka T, Ishihata H, Takase K. Transvenous Radiofrequency Catheter Ablation for an Aldosterone-Producing Tumor of the Left Adrenal Gland: A First in Human Case Report. *Cardiovasc Intervent Radiol*. 46(12):1666-1673,2023. doi: 10.1007/s00270-023-03584-x.
2. Cheng PW, Kurioka T, Chen CY, Chang TM, Chiu WT, Hosoda H, Takase K, Ishihata H, Kurosu H, Sone M. Platinum Metallization of Polyethylene Terephthalate by Supercritical Carbon Dioxide Catalyzation and the Tensile Fracture Strength. *Materials (Basel)*.16(6):2377, 2023. doi: 10.3390/ma16062377.
3. Sakisaka Y, Ishihata H, Maruyama K, Nemoto E, Chiba S, Nagamine M, Hasegawa H, Hatsuzawa T, Yamada S. Serial Cultivation of an MSC-Like Cell Line with Enzyme-Free Passaging Using a Microporous Titanium Scaffold. *Materials (Basel)*. 16(3):1165, 2023. doi: 10.3390/ma16031165.
4. Sato H, Ishihata H, Kameyama Y, Shimpo R, Komasa S. Professional Mechanical Tooth Cleaning Method for Dental Implant Surface by Agar Particle Blasting. *Materials (Basel)*. 14(22):6805, 2021. doi: 10.3390/ma14226805.
5. Hasegawa H, Kaneko T, Endo M, Kanno C, Yamazaki M, Yaginuma S, Igarashi H, Honma H, Masui S, Suto M, Sakisaka Y, Ishihata H. Comparing the Efficacy of a Microperforated Titanium Membrane for Guided Bone Regeneration with an Existing Mesh Retainer in Dog Mandibles. *Materials (Basel)*. 14(12):3358, 2021. doi: 10.3390/ma14123358.
6. Zhang J, Sakisaka Y, Ishihata H, Maruyama K, Nemoto E, Chiba S, Nagamine M, Hasegawa H, Yamada S. Evaluation of Preosteoblast MC3T3-E1 Cells Cultured on a Microporous Titanium Membrane Fabricated Using a Precise Mechanical Punching Process. *Materials (Basel)*. 13(22):5288, 2020. doi: 10.3390/ma13225288.

【産業財産権】

出願状況(計1件)

1. 特開 2020-80836(P2020-80836A) 公開日：令和2年6月4日(2020.6.4) 発明の名称：多孔膜状細胞培養基板を用いた細胞培養方法 出願番号：特願 2018-228548(P2018-228548) 出願人：株式会社長峰製作所 発明者：千葉 茂樹，井上 拓，石幡 浩志，向阪 幸彦

【研究組織】

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：佐藤 秀明

ローマ字氏名：SATO, Hideaki

所属研究機関名：東京都市大学

部局名：理工学部
職名：准教授
研究者番号：00196263

研究分担者氏名：兼平 正史
ローマ字氏名：KANEHIRA, Masafumi
所属研究機関名：東北大学
部局名：大学院歯学研究科
職名：非常勤講師
研究者番号：30177539

研究分担者氏名：山田 聡
ローマ字氏名：YAMADA, Satoru
所属研究機関名：東北大学
部局名：大学院歯学研究科
職名：教授
研究者番号：40359849

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Sakisaka Y, Ishihata H, Maruyama K, Nemoto E, Chiba S, Nagamine M, Hasegawa H, Hatsuzawa T, Yamada S.	4. 巻 16
2. 論文標題 Serial Cultivation of an MSC-Like Cell Line with Enzyme-Free Passaging Using a Microporous Titanium Scaffold	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Materials	6. 最初と最後の頁 1165
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ma16031165	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 Zhang Jingyu, Sakisaka Yukihiko, Ishihata Hiroshi, Maruyama Kentaro, Nemoto Eiji, Chiba Shigeki, Nagamine Masaru, Hasegawa Hiroshi, Yamada Satoru	4. 巻 13
2. 論文標題 Evaluation of Preosteoblast MC3T3-E1 Cells Cultured on a Microporous Titanium Membrane Fabricated Using a Precise Mechanical Punching Process	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Materials	6. 最初と最後の頁 5288 ~ 5288
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ma13225288	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 Oguro S, Ota H, Yanagaki S, Kawabata M, Kamada H, Omata K, Tezuka Y, Ono Y, Morimoto R, Satoh F, Toyama H, Tanimoto K, Konno D, Yamauchi M, Niwa Y, Miyamoto H, Mori K, Tanaka T, Ishihata H, Takase K.	4. 巻 46
2. 論文標題 Transvenous Radiofrequency Catheter Ablation for an Aldosterone-Producing Tumor of the Left Adrenal Gland: A First in Human Case Report	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cardiovasc Intervent Radiol.	6. 最初と最後の頁 1666-1673
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00270-023-03584	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 -

1. 著者名 Cheng Po-Wei, Kurioka Tomoyuki, Chen Chun-Yi, Chang Tso-Fu Mark, Chiu Wan-Ting, Hosoda Hideki, Takase Kei, Ishihata Hiroshi, Kurosu Hiromichi, Sone Masato	4. 巻 16
2. 論文標題 Platinum Metallization of Polyethylene Terephthalate by Supercritical Carbon Dioxide Catalyzation and the Tensile Fracture Strength	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Materials	6. 最初と最後の頁 2377 ~ 2377
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ma16062377	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 Sato Hideaki、Ishihata Hiroshi、Kameyama Yutaka、Shimpo Ryokichi、Komasa Satoshi	4. 巻 14
2. 論文標題 Professional Mechanical Tooth Cleaning Method for Dental Implant Surface by Agar Particle Blasting	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Materials	6. 最初と最後の頁 6805 ~ 6805
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ma14226805	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 Hasegawa Hiroshi、Kaneko Tetsuharu、Endo Manabu、Kanno Chihiro、Yamazaki Morio、Yaginuma Sadanoshin、Igarashi Hiroki、Honma Hideaki、Masui Seiichiro、Suto Mizuki、Sakisaka Yukihiko、Ishihata Hiroshi	4. 巻 14
2. 論文標題 Comparing the Efficacy of a Microperforated Titanium Membrane for Guided Bone Regeneration with an Existing Mesh Retainer in Dog Mandibles	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Materials	6. 最初と最後の頁 3358 ~ 3358
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ma14123358	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0件

〔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	佐藤 秀明 (SATO Hideaki) (00196263)	東京都市大学・理工学部・准教授 (32678)	
研究分担者	兼平 正史 (KANEHIRA Masafumi) (30177539)	東北大学・歯学研究科・非常勤講師 (11301)	
研究分担者	山田 聡 (YAMADA Satoru) (40359849)	東北大学・歯学研究科・教授 (11301)	

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
---------	---------