

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：13101

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2023

課題番号：21K21006

研究課題名（和文）表面での歯根膜再生を可能とする歯根破折歯修復用接着材料の新規適用法開発

研究課題名（英文）Development of a new method for applying dental adhesive materials to repair root fractures, enabling surface periodontal regeneration.

研究代表者

浜谷 桂佑（Hamaya, Keisuke）

新潟大学・歯学総合研究科・非常勤研究員

研究者番号：30911599

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）：本邦における抜歯の原因として齲蝕や歯周病は減少しているが、相対的に「歯根破折」は増加している。本研究の目的は、歯根破折修復後の破折線に沿って露出する接着材料表面にセメント質を再生させ、歯根膜を完全に再生させるため、「生体親和性と細胞誘導性」を有し、長期的に機能させることのできる「強度と接着性」を兼ね備えた、歯根破折修復のための接着材料適用法を開発することである。理工学的検討やin vitro解析で許容された各種材料を4-META/MMATBBレジンセメントに配合し、ラット歯根破折歯修復モデルに応用する実験を行ったところ、その材料表面に硬組織もしくは軟組織が接する所見が認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

8020推進財団の調査によると、日本の永久歯の抜歯原因の第3位は歯の破折である。経年的にう蝕や歯周病が減少している一方で、歯の破折による歯の喪失は相対的に増加している。従来、歯根破折の治療方法は経過観察か抜歯であったが、4-META/MMATBBレジンセメントにより、破折歯を修復し意図的再植が可能になった。しかしながら破折線に沿って残存する材料表面には歯周ポケットが残り、再び炎症を生じたり、材料の劣化により再破折が生じることがある。そこで新たな接着材料を開発することで、セメント質と歯根膜を完全に再生できれば、歯根破折歯修復歯の長期生存による咬合崩壊の予防にもつながり大きな意義があると考えられる。

研究成果の概要（英文）：In Japan, the number of tooth extractions due to issues like cavities and gum disease is decreasing. However, "root fractures" are relatively increasing. This study is focused on regenerating the cementum along the fracture line on the surface of the adhesive material after repairing a root fracture and fully regenerating the periodontal ligament. The aim is to develop a method for applying an adhesive material for root fracture repair that has "biocompatibility and cell induction ability" and combines "strength and adhesiveness" for long-term function. Various materials used in engineering studies and in vitro analysis were combined with 4-META/MMATBB resin cement and applied to a rat root fracture tooth repair model. The results showed that hard and soft tissues were in contact with the material surface.

研究分野：歯科補綴学

キーワード：歯根破折

様式 C - 19 , F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

平成 30 年公益社団法人 8020 推進財団の調査によると、日本の永久歯の抜歯原因の第 3 位は「歯の破折」である。経年的にう蝕や歯周病が減少している一方で、「歯の破折」による歯の喪失は相対的に増加している。予防先進国スウェーデンの 40 代からの歯の喪失原因の 1 位は「歯の破折」との報告があるが、日本はこれに追従する可能性が高い。また、超高齢社会における歯冠修復物の長期経過症例の増加に伴い、今後、抜歯原因に占める歯根破折は増加し、これに対する対応とその解決策が求められている。従来、歯根破折に対する治療方法は経過観察か抜歯であったが、4-META/MMATBB レジンセメントにより、破折歯を修復し意図的再植が可能になった。しかしながら破折線に沿って残存する材料表面には歯周ポケットが残り、再び炎症を生じたり、材料の劣化により再破折が生じたりすることがある。そこで我々は今までに開発されていない歯根破折修復のための新たな接着材料を開発することで、修復材料表面にセメント芽細胞を誘導し、セメント質と歯根膜を完全に再生できないかと考えた。一般的な歯周疾患とは異なり、歯根破折歯の破折線近傍の歯根には健全な歯根膜、セメント質、歯槽骨が存在するため、歯周病による水平的な骨欠損とは異なり、歯根膜を再生できる可能性は高い。歯根破折歯修復歯の長期生存による咬合崩壊予防には大きな意義がある。今までにも覆髄や根管充填に対する歯科材料でその近傍に硬組織様組織を誘導した報告は多くあるが、歯根破折歯修復に特化し、かつ歯根の長軸に沿った歯根膜の再生を目的に、既存の接着材料に生体活性物質を混合して用いる研究は世界的にも報告がない。

2. 研究の目的

本研究は、歯根破折を修復し意図的再植後の歯根周囲に完全な歯根膜の再生を目指し、補綴的に長期間機能させることを目指す、歯根破折歯修復のための接着材料を開発することである。申請者の診療室では、歯根破折歯修復の臨床研究を行い、歯根破折歯の病因・病態・治療の効果を報告してきた（浜谷桂佑ほか、2016）。その中で治療後に残る局所的な歯周ポケットや材料の劣化が長期的に問題となることを認識した。また、研究申請者は世界で初めてラット歯根破折修復モデルを確立し、短期間で多くの実験ができる環境を構築したことは、独自の発想に基づく画期的な取り組みである（浜谷桂佑ほか、2019）。

3. 研究の方法

本研究では歯根破折歯修復用接着材料開発のため下記を検討することとした。

- 1) 歯根破折歯修復用接着材料の理工学的検討
4-META/MMATBB レジンセメントの強度と接着性を担保する至適混合材料の探索。
- 2) 歯根破折歯修復用接着材料に対する細胞反応の *in vitro* 解析
セメント芽細胞・骨芽細胞・歯根膜細胞を用いてその表面での増殖・分化を検討する。
- 3) 歯根破折歯修復用接着材料に対する生体反応の *in vivo* 解析
我々が確立したラット歯根破折歯修復モデルを用いて、組織学的検索を行う。

4-META/MMATBB レジンセメントに混合したハイドロキシアパタイト（前田ら；私信）は既に *in vitro* でセメント芽細胞、骨芽細胞の増殖・分化が認められていたため、我々が確立したラット歯根破折歯修復モデルに応用した。また、4-META/MMATBB レジンセメントに enamel matrix derivative, connective tissue growth factor (SB/CTGF), transforming growth factor-3 (SB/TGF-3), and fibroblast growth factor (SB/FGF) を混和した材料を *in vivo* 解析に使用した。以下は *In vivo* 解析の方法である。

(1) 4 週齢 SD ラットの上顎第一臼歯を抜歯した。実験群は第一臼歯近心根にダイヤモンドディスクにて破折線を模した窩洞を形成した。窩洞には上記生体充填材料を充填する。その後抜歯窩に再植し、隣在歯にセメントで固定した。治療期間に再植歯に刺激が加わらないように対合歯は抜歯を行った。対照群は実験群と同じ時間経過後に 4-META/MMATBB レジンセメントのみで充填し再植した歯根とした。

(2) 再植 2, 4, 6 週間後にパラフォルムアルデヒドにて還流固定を行い、左右上顎骨を摘出してパラフィン包埋後に組織薄切標本を作製した。

(3) 組織標本は H-E 染色、マッソントリクローム染色、ピクロシリウスレッド染色、免疫組織化学染色等を行い、修復処置実施した周囲組織（上皮、歯根膜、セメント質、歯槽骨）の組織学的観察・組織形態学的観察を光学顕微鏡下および偏光顕微鏡にて行う。特に修復材料表面の軟組織・硬組織、コラーゲン繊維の走行、セメント質の再生、骨吸収、歯根吸収を観察する。

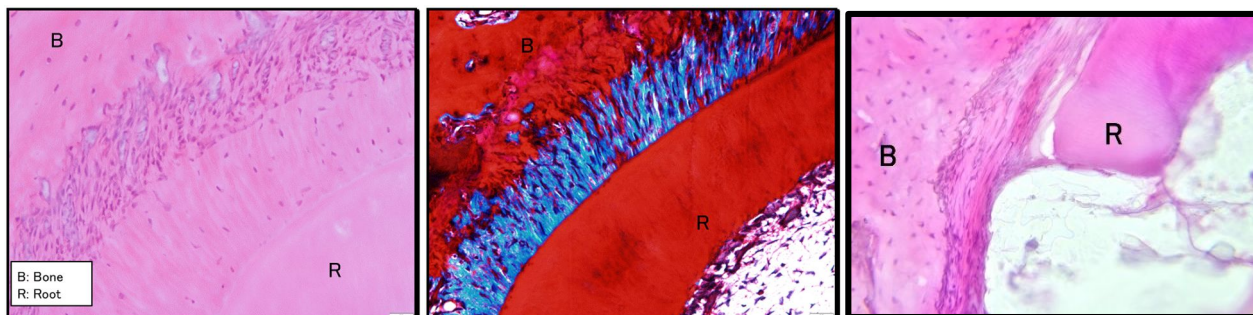
4. 研究成果

<実験方法について>

- ・歯根膜細胞は再植歯の即時移植もしくは15分以内の再植において生存していると言われていたが、本手法においては抜去した歯根が口腔外に暴露されている時間はどの条件においても10以下であった(Data not shown) .
- ・実験中に炎症所見が認められることがあり過去の文献から Doxycycline を抜歯窩および 4-META/MMATBB レジンセメントの硬化待ちの際に用いることで、抗菌作用、抗炎症作用、抗菌根吸収を促すことができた .

<組織学的検索>

窩洞形成を行わない場合、HE-染色およびマッソントリクローム染色より歯根膜におけるコラーゲン繊維の走行が歯根と歯槽骨を結んでいる状態が確認できる。しかしながら実験群では、コラーゲン繊維の走行は充填材料に平行に走行している様子が見られる(図1)。



(図1) 左: 窩洞形成なしの場合(HE染色) 中: 窩洞形成なしの場合(マッソントリクローム染色), 右: 歯根破折を模倣した窩洞に接着材料を充填した場合(HE染色) B: 歯槽骨, R: 歯根 .

対照群 (META/MMATBB レジンセメントのみ)

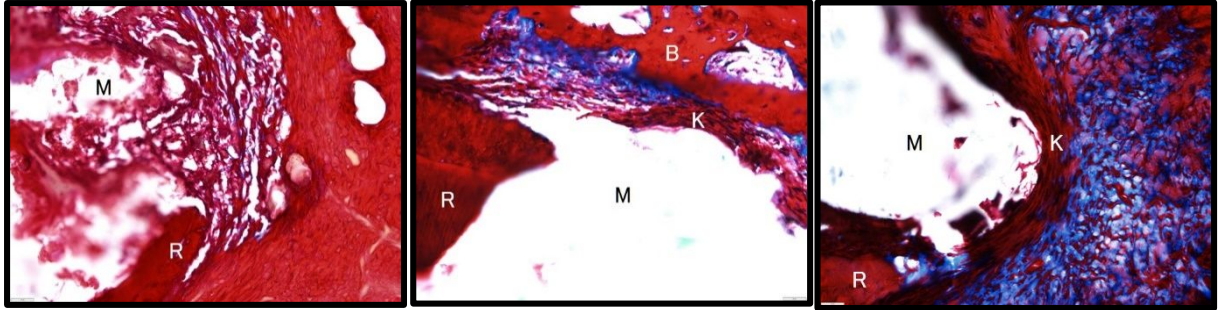
経時的に炎症性の細胞は少なくなっているものの、6週間後においても依然として観察される。材料表面における明らかなセメント質の再生は認められない(図2)。



(図2) 対照群 (META/MMATBB レジンセメントのみ) HE染色 . 左: 2週間後, 中: 4週間後, 右: 6週間後 . B: 歯槽骨, R: 歯根, M: 充填材料, In: 炎症性の細胞 .

実験群 (META/MMATBB レジンセメント + 各種材料)

各種材料間においては大きな違いは認められなかったため、META/MMATBB レジンセメント + FGF2 用いた結果を示す。観察期間を通して炎症性の細胞はほとんど認められなかった。再植後2週間においては材料表面に軟組織が認められるが、明らかなコラーゲン線維の規則的走行は認められなかった。4週間後には材料表面に角化組織が認められた。また、歯槽骨との間には一層のコラーゲン繊維が観察された。6週間後においては材料表面の角化組織の厚みが肥厚し、歯槽骨との間には豊富なコラーゲン組織が観察された。いずれの観察期間においても明らかなセメント質の再生は認められなかった(図3)。しかしながら、材料表面にきわめて近い部位に硬組織の再生が認められたため、さらなる観察期間の延長も考慮する必要がある。さらに現在、免疫組織化学染色としてケラチン陽性細胞およびラミニニン、インテグリンを用いた染色を行っている(Data not shown) .



(図3) 実験群 (META/MMATBB レジンセメント + FGF2) マッソントリクローム染色 . 左 : 2 週間後 , 中 : 4 週間後 , 右 : 6 週間後 . B: 歯槽骨 , R: 歯根 , M: 充填材料 , K: 角化細胞 .

歯根破折歯修復用接着材料の理工学的検討としては , 現在 , 従来の 4-META/MMATBB レジンセメントの材料特性が保たれると言われている配合を元に , 材料の評価を機械的性質 (破壊試験) や熱サイクル試験 (耐久性試験) を実施している .

本研究期間においては完全な歯根膜の再生は認められなかったが , 材料表面付近の硬組織や角化組織が観察された . 今後は使用材料に関する *in vitro* 実験に平行して , *in vivo* においても引き続き観察期間の延長や材料表面の組織の特徴を検索する必要がある .

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Chuta Kooanantkul, Masako Nagasawa, Tongtong Zhang, and Katsumi Uoshima
2. 発表標題 Histological observation on periodontal tissue after vertical root fracture repair with 4-META/MMA-TBB resin mixed with CTGF, TGF-β3, and FGF
3. 学会等名 the 2024 International Collaborative Symposium on Development of Human Resources in Practical Oral Health and Treatment (国際学会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Chuta Kooanantkul, Masako Nagasawa, Tongtong Zhang and Katsumi Uoshima
2. 発表標題 Histological observation on periodontal tissue after vertical root fracture repair with 4-META/MMA-TBB resin
3. 学会等名 The 14th Asian Academy of Prosthodontics (国際学会)
4. 発表年 2024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
---------	---------