

平成 29 年 6 月 13 日現在

機関番号：32622

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26861604

研究課題名(和文) オフィスブリーチ材の歯肉為害性の臨床応用研究

研究課題名(英文) Cytotoxic effects of hydrogen peroxide on human gingival fibroblasts for clinical cases

研究代表者

古川 匡恵 (FURUKAWA, MASAE)

昭和大学・歯学部・兼任講師

研究者番号：90439456

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：オフィスブリーチは現在審美歯科において人気のある漂白法である。しかしながら、オフィスブリーチ法は熟練した術者においても術中に歯肉や口腔粘膜に漂白剤が付着してしまうことがある。この漂白剤の歯肉に対する影響について以前我々は炎症性反応であると明らかにし、ビタミンEを塗布することにより予防できると結論付けた。今回は実際臨床で行う際に誰にでも簡単に安全に行えることを目標としたが、達成できなかった。

研究成果の概要(英文)：Office bleach is a popular treatment in modern aesthetic dentistry. However, bleaching agents are sometimes accidentally adhered to gingiva and peripheral tissues even by well-trained operators, which leads to transient pain and whitish change of gingiva. Regarding the influence of this bleaching agent on gingiva, we concluded that it can be prevented by clarifying that it is an inflammatory reaction and applying vitamin E. This time I aimed to make it easy and safe for anyone in clinical practice, but I could not achieve it.

研究分野：医歯薬学

キーワード：オフィスブリーチ 歯肉為害性 side effects gingival irritation hydrogen peroxide

1. 研究開始当初の背景

オフィスブリーチは現在審美歯科において人気のある漂白法である。しかしながら、オフィスブリーチ法は熟練した術者においても施術中に歯肉や口腔粘膜に漂白剤が付着してしまうことがある。その場合、歯肉に一過性の疼痛および白色化が起こるが、数時間後には症状は軽減し、白色化も消失してしまう。この漂白剤の歯肉に対する影響については文献などでは知られていないことが多い。

我々は現在までに口腔内で起こる歯肉為害性の機序をより詳細に解明するために、in vitro でヒト歯肉為害性を検討する実験を行った。その結果、細胞生存率は過酸化水素処理群で高く、 $1.5 \times 10^{-3}$ %の濃度を境目に細胞障害性がなくなり、コントロールと同様の細胞生存率を示した。また、-tocophenol 添加によって細胞障害性が緩和することを明らかにした。

2. 研究の目的

ホワイトニング(ブリーチ)は現在歯科において書かせない施術法である。以前は一部の層(芸能人など)にのみ行われていたものであるが、今では一般の齲蝕治療を受けにきた患者にもリクエストされることが多く、中でも男性や高齢者のホワイトニングは増加傾向にある。歯を元の色より白くするには歯を切削する方法すなわち 歯科補綴(保存)学的に修復・補綴する方法、漂白の2つの方法がある。患者は自分の歯を削ることなく、より侵襲の少ない方法を選択することが多いためブリーチのニーズは増加している。歯の漂白方法に関しては生活歯においては患者が自宅で行うホームブリーチ法と歯科医院で行うオフィスブリーチ法の2つの方法がある。ホームブリーチは患者が自宅で行うため、医師がコントロールできない上、長時間のマウストレーの装着がネックでありオフィスブリーチを選択する患者が多い。

オフィスホワイトニング術式(松風ハイライト)



本研究では、オフィスブリーチに注目して研究を行う。オフィスブリーチは患者への説明を行い同意をとり、上記のように行う。

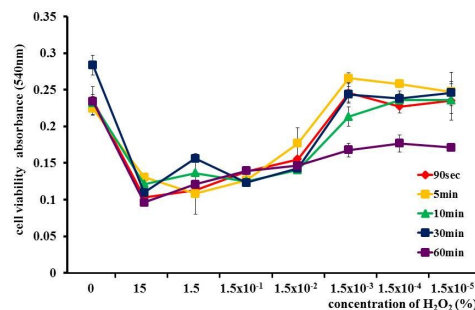
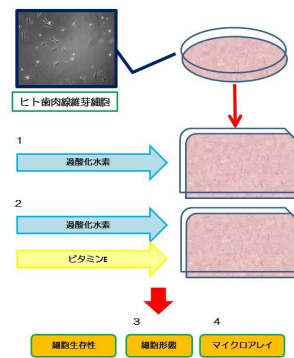
この際に歯肉をワセリンやレジン、ラバーダムなどで保護するが、熟練した術者においても術中に歯肉や口腔粘膜に漂白剤が付着してしまうことがある。その場合、歯肉に一

過性の疼痛および白色化が起こるが、30分~数時間後には症状は緩和し、白色化も消失してしまう。この漂白剤の歯肉に対する影響については文献などでは知られていない。



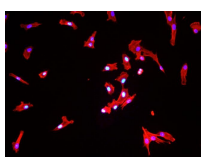
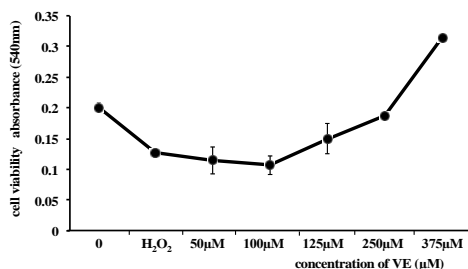
本山ら(歯科審美, p.129-133, vol.16, No.1, 2003)によるとその白濁した疼痛部位にケナログやワセリンなどを塗布しても疼痛や白濁は緩和されないと報告している。現在までにその白濁部位に対する効果的な治療法ないし対処法は確立されておらず、また分子生物学的にも該当部位にどのような反応が起きているのかは不明な点が多い。ホワイトニングの講義においては患者の歯肉や口腔粘膜に漂白剤が付着した際は「直ちに水洗を行う」と説明しており、それも何のエビデンスもないことがうかがえる。

**我々は現在までにこの現象を明らかにするために in vitro でヒト歯肉線維芽細胞に過酸化水素を作用させ、細胞障害性を検討する研究を行った。**

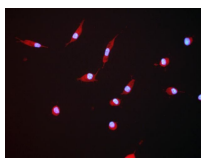


細胞生存率を Alamar Blue ( invitrogen ) を用いて検討したところ、細胞生存率は低濃度の過酸化水素過酸化水素処理群で高く、

1.5x10<sup>-3</sup>%以上の高濃度処理群ではどの時間でも障害を受けた。その一方で 1.5x10<sup>-3</sup>%の濃度を境目に細胞障害性がなくなりコント



コントロール群



過酸化水素添加群

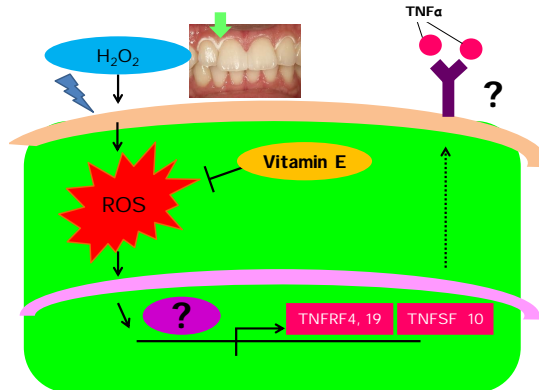


過酸化水素+ビタミンE 添加群  
図6 ファロイジン染色

ロールと同様の細胞生存率を示した。

また、 $\alpha$ -tocopherol 添加によって細胞障害性が緩和することが明らかになった。その研究結果から **オフィスブリーチを行う際に、あらかじめ  $\alpha$ -tocopherol を歯肉に塗布し歯肉を保護した上で施術することで、ヒト歯肉線維芽細胞のオフィスブリーチ材による細胞障害抑制作用に有効であることが明らかとなった。** またこのメカニズムに炎症性サイトカインの関わりも示唆されている。

この研究成果については平成 24 年日本歯科審美学会 / アジア歯科審美学会において「Cytotoxic Effects of Hydrogen Peroxide on human gingival fibroblasts in vitro」というタイトルで発表し、**最優秀ポスター賞を受賞した。** この研究の発展として、今後以下 4 点の研究の必要性が挙げられる。歯肉上皮細胞で同様の検討を行う、歯肉以外すなわち皮膚の場合（術者への対応） in vivo での再現性の検討 安全性の高い  $\alpha$ -tocopherol の歯肉



**保護材の開発** in vivo での再現性の検討（マウスを使用した実験）である。これらを明らかにすることでより審美歯科途上国である日本が安心して使用できるツールを発信することになると考える。

この研究成果はあくまでも in vitro の検討であったため、in vivo でも同様の結果が出ることを再現させ、オフィスブリーチの side effects としての歯肉炎症を予防・治療させ、誰にでも安全にオフィスブリーチができるようにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

in vitro におけるオフィスブリーチ材の歯肉為害性を検討する。歯肉上皮細胞における変化を遺伝子レベルで検討する。歯肉為害性は歯肉上皮細胞を使用して検討を行う。現在までの研究で歯肉線維芽細胞を 96 穴プレートに 10%FCS 添加した FM 培地で培養し、それぞれに PBS で濃度調整した 15, 1.5, 1.5x10<sup>-1</sup>, 1.5x10<sup>-2</sup>, 1.5x10<sup>-3</sup>, 1.5x10<sup>-4</sup>, 1.5x10<sup>-5</sup>, 1.5x10<sup>-6</sup> % 各々の過酸化水素を 5, 10, 30, 60 分間作用させ、再び PBS で洗浄した。細胞生存率を Alamar Blue (invitrogen) を用いて測定し検討した。

同様の検討を歯肉上皮細胞で行う。すなわち歯肉線維芽細胞は細胞内でもやや深部にあるため反応に時間がかかると想定できる。歯肉上皮細胞で行うことで、オフィスブリーチ材の歯肉に対する初期の反応が確認できる。

歯肉線維芽細胞における細胞生存率は低濃度の過酸化水素処理群で高く、1.5x10<sup>-3</sup>% 以上の高濃度処理群ではどの時間でも障害を受け、その一方で 1.5x10<sup>-3</sup>%の濃度を境目に細胞障害性がなくなりコントロールと同様の細胞生存率を示した。また、 $\alpha$ -tocopherol 添加によって細胞障害性が緩和することが明らかになっている。

この結果をもとに上皮細胞で同様の検討を行った場合、より低濃度の過酸化水素処理群で刺激を受ける可能性が高いのである。

歯肉以外すなわち皮膚の場合（術者への対応）  
皮膚為害性はオフィスブリーチを行う術者においても重要な項目である。ヒト皮膚細

胞を用い上記と同様の検討を行う。通常臨床で術者はグローブを装着して診療を行うが、皮膚にもオフィスブリーチ材が付着することもある。通説で言われている水洗は果たして有効なのかをも検討する予定であった。

オフィスブリーチが歯肉に付着した際の対処法の確立。すなわち安全性の高い -tocopherol の歯肉保護材の開発

現在までにヒト歯肉線維芽細胞でオフィスブリーチ材を使用し歯肉保護に -tocopherol が有効であることは明らかになっている。ここから、より安全性の高い歯肉保護材としてワセリンなどを混和して作る歯肉保護材を開発することを目標としていた。

in vivo での再現性の検討(マウスを使用した実験)

オフィスブリーチ材が歯肉に付着しても異常が出ない過酸化水素濃度配合のオフィスブリーチ材の開発を行う。

オフィスブリーチ材が歯肉に付着した際の対処法の確立。

現在までに、in vitro の研究で歯肉にオフィスブリーチ剤が歯肉に付着した際に -tocopherol 添加で細胞障害性が緩和するという結果が得られている。そのため、その -tocopherol を臨床応用する為の研究を行う。最終的には -tocopherol を配合した歯肉保護クリームを開発したい。

#### 4．研究成果

以前までの研究成果をもとに、歯科保存学では最高峰と言われている Operative Dentistry への執筆、投稿をし、掲載された。しかしながら研究場所や時間を取得することが厳しく、産後の育児で研究が進まなかった。

#### 5．主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計1件)

M Furukawa, K-Kaneyama JR, Yamada M, Senda A, Manabe A, Miyazaki A. Cytotoxic effects of Hydrogen Peroxide on Human Gingival Fibroblasts In Vitro. Operative Dentistry,40(4),2015,430-439. (査読有)

〔学会発表〕(計1件)

M Furukawa. Office Bleaching in Japan. Ace Dentistry III 2016.8.14 インドネシア アチェ

〔図書〕(計0件)

〔その他〕  
ホームページ等

#### 6．研究組織

##### (1)研究代表者

古川 匡恵 (FURUKAWA MASAE)

昭和大学・歯学部歯科保存学教室・兼任講師

研究者番号：90439456