

平成 30 年 6 月 12 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K20575

研究課題名(和文)ポリフェノールを応用した生活歯髄切断材料の開発

研究課題名(英文)Development of the dental pulpotomy materials applying polyphenol

研究代表者

中村 光一(Nakamura, Koichi)

北海道大学・歯学研究院・助教

研究者番号：50580932

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究はカテキンを利用した生活歯髄切断材料を開発することを目的として行った。SDラットの上顎臼歯に対して生活歯髄切断を行った。全身麻酔下で歯冠部歯髄を切断後、酸化亜鉛ユージンオールセメントに各濃度のエピガロカテキンガラートを添加し、切断面を覆った。カテキン濃度0.1%ではコントロール(カテキン濃度0%)と比較して炎症性細胞浸潤の変化は軽度であった。カテキン濃度1.0%と5.0%では炎症性細胞浸潤は減少していた。続いてStreptococcus mutansに対する抗菌作用について検討した。カテキンの濃度が0.01%の場合、培養24時間後ならびに48時間後の細菌量が約半分程度抑制されていた。

研究成果の概要(英文)：This study was intended to develop vital pulpotomy materials using catechin. I performed pulpotomy for the maxillary molar of the SD rat. I added epigallocatechin gallate of each density in zinc oxide eugenol cement after cutting in tooth coronal pulp under general anesthesia and covered the section. The change of the cell permeation more inflammatory than control (0% of catechin density) was slight with 0.1% of catechin density. The inflammatory cell permeation decreased in 1.0% of catechin density and 5.0%. I examined antibacterial action for Streptococcus mutans successively. In the case of 0.01%, it was restrained about half of degree quantity of bacteria culture 24 and 48 hours later the density of catechin.

研究分野：小児・障害者歯科

キーワード：catechin nano porous silica

1. 研究開始当初の背景

ポリフェノールは様々な植物に色素や苦味の成分として含まれており、その作用が注目されている。ポリフェノールの一種であるカテキンはワインやお茶に多く含まれ、強い抗酸化作用があることが報告されている。また、申請者は同じくポリフェノールの一種であるタンニンが、ラット歯髄由来細胞において、COX-2mRNA ならびにタンパク質の発現を抑制することにより、プロスタグランジン E2 の産生を減少させ、歯冠修復材料抽出液によって惹起された炎症を抑える働きを有することを明らかにしている。また、現在歯科におけるポリフェノール関連の研究は烏龍茶ポリフェノールや緑茶カテキン類を中心に行われている。烏龍茶ポリフェノールはミュータンスレンサ球菌におけるグルカン合成酵素の阻害作用が報告されており (Nakahara et al., Appl Environ Microbiol, 1993)、緑茶カテキン類は同じくミュータンスレンサ球菌に対して抗菌作用を示すことが報告されている (Sakanaka.S et al., Agric Biol Chern, 1989)。さらに緑茶カテキンは歯科用レジンへの添加により、クロルヘキシジンと同様の抗菌作用を示すことが明らかになっている (Mankovskaia.A et al., J Appl Oral Sci, 2013)。

2. 研究の目的

上記の背景を踏まえて、緑茶カテキンの代表的な成分であるエピガロカテキンガラートを応用した歯髄親和性の高い生活歯髄切断材料を開発する。

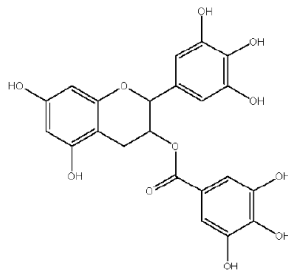


図1 エピガロカテキンガラート

3. 研究の方法

(1)ラットにおける生活歯髄切断

6週齢のSDラットの上顎第一臼歯に対して全身麻酔下で生活歯髄切断を行った。歯冠部歯髄を歯科用ドリルを使用して切断後、酸化亜鉛ユージノールセメントに各濃度のエピガロカテキンガラート(0.1%、1.0%、5.0%)を添加し、切断面を覆った。さらに上部は即時重合レジンで封鎖した。1週間経過した後、上顎第一臼歯を抜去し、組織標本を作成しHE染色ならびにTRAP/ALP染色を行い、組織像を観察した。

(2)エピガロカテキンガラートの抗菌作用の評価

Streptococcus mutans を用いてエピガロカテキンガラートの抗菌作用の評価を行った。Streptococcus mutans をTY培地で37℃で24時間ならびに48時間培養した。各時間培養した後に培地を分光光度計で測定することにより Streptococcus mutans の相対量を求めた。

(3)nano porous silica の応用によるエピガロカテキンガラートの持続的な放出

対照群としてガラスアイオノマーセメント (Fuji II, 株式会社ジーシー) を使用して直径10mm、厚さ1mmのディスク状の試料を作製した。実験群として、ガラスアイオノマーセメントの粉成分に nano porous silica を10%含有し作製したディスク状の試料を作製した。試料を作製した後、1%エピガロカテキンガラート溶液に37℃で24時間浸漬した。その後試料を脱イオン水で洗浄し、脱イオン水中に37℃で24時間浸漬した。24時間後同様に試料を脱イオン水で洗浄し、新たな脱イオン水に浸漬する作業を10日間行った。試料を浸漬していた上清を分光光度計で測定し、試料から放出されたエピガ

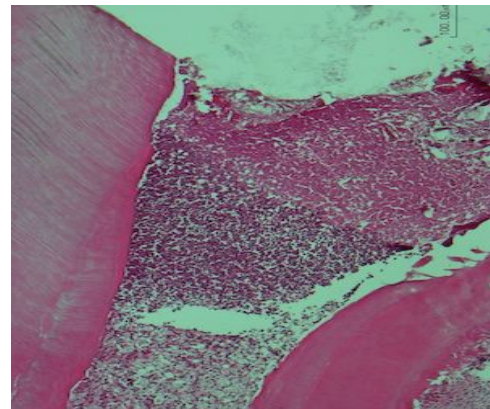


図2 対照群 HE染色

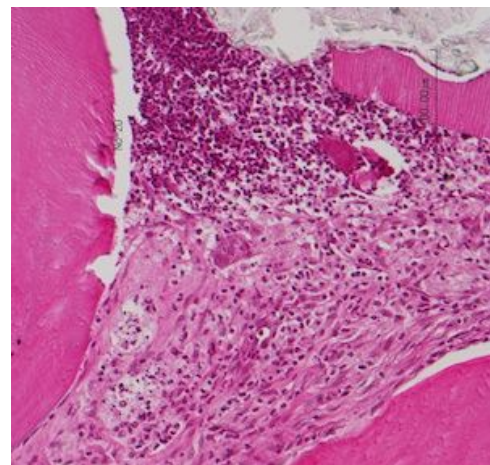


図3 0.1%エピガロカテキンガラート
HE染色

ロカテキンガラートの量を求めた。

4. 研究成果

(1)ラットにおける生活歯髄切断
ラット上顎第一臼歯に対して生活歯髄切断を行った結果以下の図2-5のようになった。

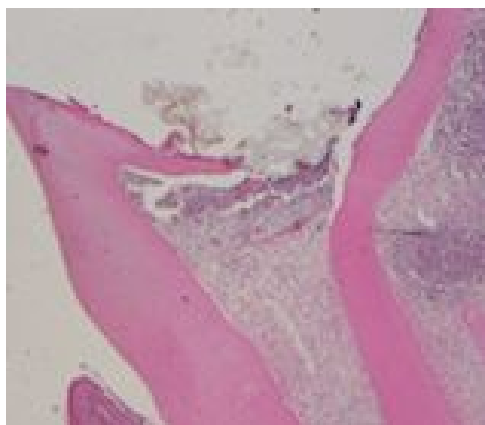


図4 1.0 %エピガロカテキンガラート
HE 染色

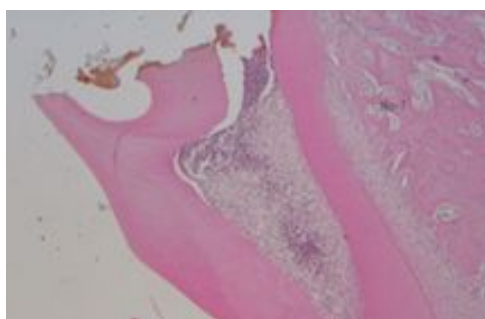


図5 0.1 %エピガロカテキンガラート
HE 染色

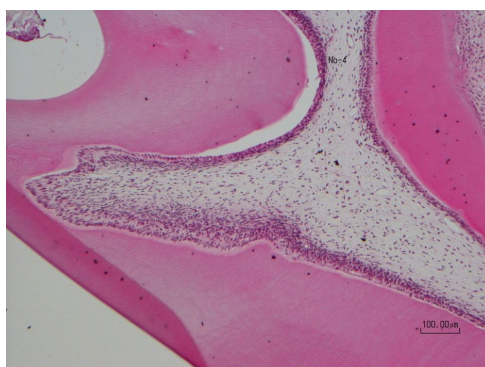


図6 正常歯髄像 HE 染色

エピガロカテキンガラートの濃度が 0.1 % の場合は、対照群と比較して炎症性細胞浸潤が軽度であった。エピガロカテキンガラートの濃度が 1.0 % では炎症性細胞は切断面にやや認められるものの、正常像に近い状態が確認できた。5.0 % の場合でも同様に正常像に近い状態が確認できた。以上のことから、エピガロカテキンガラートが切断歯髄に対して

抗炎症作用を示すことが明らかになった。

また、TRAP/ALP 染色の結果を図7-10に示す。0.1 %ならびに 1.0 %エピガロカテキンガラートにおいて、ALP 活性を示す青く染色

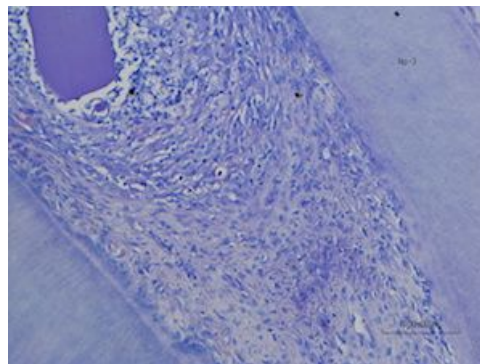


図7 対照群 TRAP/ALP 染色

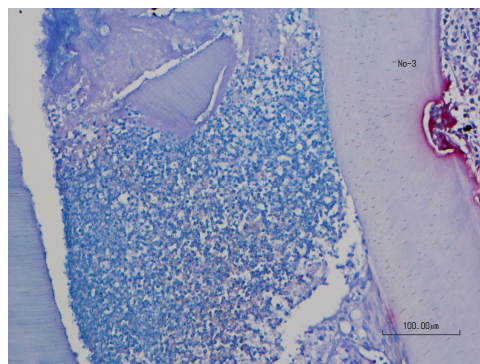


図8 0.1 %エピガロカテキンガラート
TRAP/ALP 染色

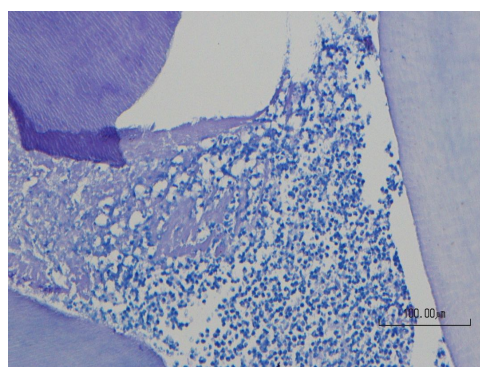


図9 1.0 %エピガロカテキンガラート
TRAP/ALP 染色

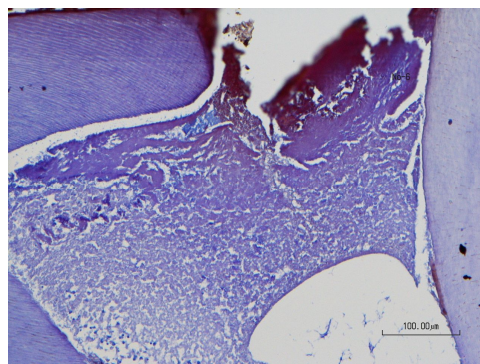


図10 5.0 %エピガロカテキンガラート
TRAP/ALP 染色

する部分が切断面付近で多く認められた。

(2) エピガロカテキンガラートの抗菌作用の評価

Streptococcus mutans を培養し抗菌作用を検討した結果を図 1 1 に示す。

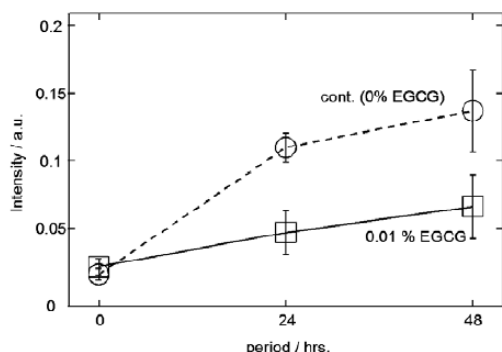


図 1 1 培養結果

エピガロカテキンガラートの添加により、24 時間後ならびに 48 時間後で細菌量は約半分となった。以上のことから、エピガロカテキンガラートが Streptococcus mutans に対して抗菌作用を持つ事が示唆された。また、1.0 %、5.0 % ではエピガロカテキンガラートが培地中でわずかながら凝集することが確認されたため、正確な測定ができないと判断し、未測定である。培地を変更するか、測定方法を検討する事により対応できると考えられる。今後の検討課題である。

(3) nano porous silica の応用によるエピガロカテキンガラートの持続的な放出

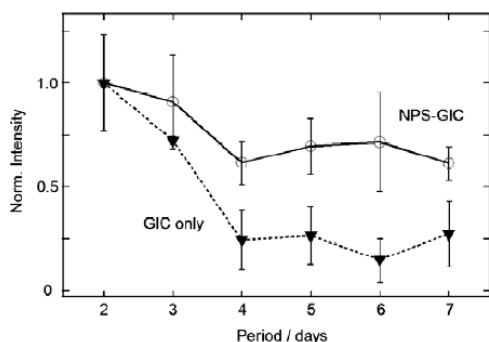


図 1 2 グラスアイオノマーセメントから放出されたエピガロカテキンガラート測定結果

図 1 2 にエピガロカテキンガラートの測定結果を示す。グラスアイオノマーセメントのみと比較して、nano porous silica を添加したものでより多くのエピガロカテキンガラートが継続的に放出されていることが明らかになった。

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)

Nakamura, K., Nakanishi, K., Bando, Y., Hasebe, A., Hyono, A., Abe, S., Shibata, K., Yoshida, Y., Iida, J., Yawaka, Y. Charge and control release of epigallocatechin gallate by glass ionomer cement containing nanoporous silica particles. Nano biomedicine; 9: 29-34, 2017. 査読有。

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中村 光一 (NAKAMURA, Koichi)
北海道大学・大学院歯学研究院・助教
研究者番号：50580932

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

なし