

平成 21 年 6 月 1 日現在

研究種目：若手研究(B)  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19791406  
 研究課題名(和文) グリコサミノグリカンが有する歯髄細胞増殖・分化能を応用した歯髄再生療法の開発  
 研究課題名(英文) Development the treatment of dentin-pulp regeneration using the growth and differentiation ability of glycosaminoglycan  
 研究代表者 永吉 雅人(NAGAYOSHI MASATO)  
 九州歯科大学・歯学部・助教  
 研究者番号：30382419

研究成果の概要：

ヒアルロン酸スポンジは歯髄細胞保持力を有しているとともに、コラーゲンスポンジに比べ歯髄創傷治癒過程で見られる炎症反応を抑制する可能性が示唆された

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,700,000	0	1,700,000
2008年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	420,000	3,520,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・保存治療系歯学

キーワード：歯髄再生, グリコサミノグリカン

## 1. 研究開始当初の背景

口腔機能を生涯にわたり維持する上で歯・歯髄を保護する事は重要である。現在の歯科治療では、感染歯質を除去後、適切な充填を行なう事で細菌感染の拡大を制御している。しかしながら、広範囲にわたる感染により重篤な傷害を受けた歯髄の保護は困難であり、抜髄を行なっているのが現状である。これまで申請者はう蝕等に伴う歯髄への細菌感染制御を目的として、生体親和性の高いオゾン水の口腔内細菌への影響を検討し、オゾン水が感染制御に有用であることを明らかにしてきた(Oral Microbiol and Immun;

2004, J Endod; 2005, Oral Microbiol and Immun; 2005)。

一方、様々な外来刺激により傷害を受けた象牙質・歯髄複合体の創傷治癒・再生過程では、その局所において、失われた組織を修復するための細胞増殖と分化が巧妙にコントロールされている。申請者の所属する研究グループは歯髄再生療法の確立を目的とした研究を進めてきており、歯髄創傷治癒の過程でアポトーシスが誘導されること、その歯髄アポトーシスにはヒートストレスによって活性化される一連の分子が関与していること、さらに、これらの分子は、歯髄アポトー

シス後の歯髄創傷治癒・再生に深く関わっていることを明らかにしてきた(J Cell Biochem; 2005)。その後、細菌由来のリポ多糖(Lipopolysaccharide; LPS)は短時間のヒートストレスに対する歯髄細胞の抵抗性を増強するが、長時間のヒートストレスに対する歯髄細胞の抵抗性に影響を及ぼさないことを明らかにした(J Cell Biochem; 2006)。

## 2. 研究の目的

今回の研究目的は、最近、細胞の増殖・分化に影響を与える事が報告されており、生体親和性が高く、入手が比較的容易で歯髄や多くの組織に豊富に存在する細胞外基質であるグリコサミノグリカン(glycosaminoglycan; GAG)が、歯髄細胞の増殖・分化に与える影響を検討し、歯髄再生療法に応用可能かどうかを調べる事にある。

## 3. 研究の方法

ラット歯髄より樹立した象牙芽細胞様細胞株(KN-3細胞)をヒアルロン酸スポンジおよびコラーゲンスポンジに播種後一定期間培養し、それぞれのスポンジからプレート底部に漏出した細胞数をカウントしスポンジの細胞保持力を検討するとともに、走査型電子顕微鏡(SEM)による観察を行った。また、KN-3細胞を各スポンジに播種・培養後にみられる炎症性メディエーターの発現を測定した。次に、9週齢ラットの上顎第一臼歯咬合面から生活歯髄切断を行い、断髄面を次亜塩素酸ナトリウム、オキシドール、滅菌生理食塩水で洗浄・止血後、ヒアルロン酸スポンジあるいはコラーゲンスポンジを高洞に充填・封鎖し、一定期間経過後の歯髄組織の変化をヘマトキシリン-エオシン染色により組織学的に観察するとともに、充填部における炎症細胞数を顕微鏡下で測定した。

## 4. 研究成果

実験の結果、SEM像からコラーゲンスポンジはヒアルロン酸スポンジよりも多孔質な構造を有していることが確認された。KN-3細胞を各スポンジ内で培養したところ、両スポンジともKN-3細胞は良好に付着していたが、コラーゲンスポンジでは紡錘形で偽足を出したKN-3細胞が観察されたのに対し、ヒアルロン酸スポンジでは球型のまま付着しているKN-3細胞が観察された。細胞播種後、培養期間中にスポンジから漏出し培養プレート底部に接着している細胞数はコラーゲンスポンジで有意に多く、また炎症性メディエーター誘導も観察された。

次にラット上顎第一臼歯生活歯髄切断部に各スポンジを充填し組織変化を観察した。術後1週では、コラーゲンスポンジ群においてスポンジ残存と好中球を中心とした多数の顆粒球侵入が観察された。一方、ヒアルロン酸スポンジ群では炎症反応はほとんど認められず、スポンジは吸収され歯髄細胞および血管侵入の多い残存歯髄と類似した組織構造が観察された。術後3週では、コラーゲンスポンジ群においてスポンジ残存と炎症反応は持続しており歯髄細胞や血管侵入も少なかった。一方、ヒアルロン酸スポンジ群では術後1週の状態が持続していた。充填された各スポンジにおける炎症細胞数は、コラーゲンスポンジ群がヒアルロン酸スポンジ群の約1.6倍を示していた。以上の結果より、ヒアルロン酸スポンジは歯髄細胞保持力を有しているとともに、コラーゲンスポンジに比べ歯髄創傷治癒過程で見られる炎症反応を抑制する可能性が示唆された。

## 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 0 件)

[学会発表] (計 5 件)

1. Y. INUYAMA, C. KITAMURA, H. ISHIMATSU, T. MOROTOMI, M. NAGAYOSHI, T. NISHIHARA, and M. TERASHITA.: Effects of Hyaluronic Acid on Rat Pulp Regeneration. 86<sup>th</sup> General Session & Exhibition of the IADR, Toronto, Canada (July 2-5), 2008.
2. 寺下正道, 北村知昭, 西原達次, 横田誠, 永吉雅人, 笠井宏記: グリコサミノグリカンを応用した歯髄・歯周組織再生医療に関する研究: 第68回九州歯科学会総会・北九州(5月31日, 6月1日)2008.
3. 犬山喜夫, 北村知昭, 諸富孝彦, 永吉雅人, 西原達次, 寺下正道: 象牙質/歯髄複合体再生療法へのヒアルロン酸の応用: 第68回九州歯科学会総会・北九州(5月31日, 6月1日)2008.
4. 犬山喜夫, 諸富孝彦, 永吉雅人, 北村知昭, 寺下正道: 象牙質/歯髄複合体再生にスキャホールドとして用いたヒアルロン酸の効果: 第128回日本歯科保存学会春季学術大会・新潟(6月5,6日)2008
5. 犬山喜夫, 諸富孝彦, 永吉雅人, 北村知昭, 寺下正道: ヒアルロン酸スポンジに対する歯髄組織の炎症応答: 第129回日本歯科保存学会秋季学術大会・富山(11月

6,7日) 2008

[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

特記事項なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

永吉 雅人 (NAGAYOSHI MASATO)

九州歯科大学・歯学部・助教

研究者番号: 30382419

### (2) 研究分担者

なし ( )

研究者番号:

### (3) 連携研究者

なし ( )

研究者番号: