

機関番号：27102

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20592231

研究課題名 (和文) グリコサミノグリカンを用いた歯髄・根尖歯周組織の局所的・連続的再生療法の検討

研究課題名 (英文) Local and continuous regenerative therapy of dental pulp and periapical tissues with glycosaminoglycan

研究代表者

北村 知昭 (KITAMURA CHIAKI)

九州歯科大学・歯学部・教授

研究者番号：50265005

研究成果の概要 (和文)：本研究では、歯髄・根尖歯周組織の局所的・連続的再生療法を確立するため、基礎研究として FGF2 徐放性ゼラチン粒子やヒアルロン酸スポンジによる新生象牙質形成誘導、象牙芽細胞様細胞の熱耐性・炎症応答・BMP2-Smad シグナル伝達経路、および BMP2 誘導性骨芽細胞分化への半導体レーザーの影響を解析するとともに、臨床における歯髄・根尖病変組織の採取方法樹立の基盤となる顕微鏡下治療技術を確立した。

研究成果の概要 (英文)：To establish pulp-periapical regeneration therapy, we indicated that the induction of regenerative dentin, responses of odontoblasts and osteoblasts against various stimulations, as well as establish micro-endodontic skills.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,700,000	810,000	3,510,000
2009年度	500,000	150,000	650,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：歯内療法学

科研費の分科・細目：歯学・保存治療系歯学

キーワード：歯髄，根尖歯周組織，象牙芽細胞，骨芽細胞，再生医療

## 1. 研究開始当初の背景

現代歯科医療では広範な露髄に対しては抜髄を第一選択とすることになるが、歯内治療の困難さ・不確実さに起因する根尖病変再発率が高い。再発の結果、広範な骨欠損を伴い骨性治癒誘導が困難な根尖病変になると保存不可能と判断し抜歯しているのが歯科医療の現状である。高齢化社会を迎えた今、本来の感覚を有する歯を維持するため、歯髄・根尖歯周組織に存在する細胞を利用した歯髄・根尖歯周組織再生療法を確立することは、国民のQOLを向上させるために必須の課題である。

現在、国内外で歯髄・根尖歯周組織の創傷治癒・再生に関する研究が急速に進められて

いる。歯髄再生療法に関する研究では、生体外で歯髄組織を部分的に再生し露髄面に戻す方法や各種サイトカインを投与する方法がとられている。しかしながら、生体外組織培養には多大な費用がかかること、培養組織の取扱いが難しいこと等の問題がある。また、サイトカインは極微量で作用を発揮するが多面性を示すものも多く、使用法に限られてくる。

近年、発生・再生、免疫系・感染、及び癌発生・抑制における糖鎖の役割が注目されている。糖鎖の中でもグリコサミノグリカン (GAG) に関しては、その細胞外基質としての役割のみでなく、サイトカイン的役割の重要性について報告されている。一方、GAGによる

歯髄・根尖歯周組織の創傷治癒・再生に関する研究については、以前に高分子量ヒアルロン酸を露髄部に応用した報告があるものの、そのメカニズムに関する研究や各種GAGが歯髄・根尖歯周組織に与える影響を検討した報告は無い。

これまでに我々は、歯髄創傷治癒・再生に関する数々の研究成果を挙げてきた。歯髄創傷治癒に関する研究成果として、歯髄創傷治癒におけるアポトーシス関与 (J Dent Res 80(6)1530-1534, 2001; OperDent 28(1)75-79, 2003; J Endod 29(1)41-43, 2003; J Dent Res 82(2)91-95, 2003), 歯髄細胞が熱耐性メカニズム (J Cell Biochem 92(4)826-834, 2005; J Cell Biochem 99(3) 797-806, 2006), 低酸素環境における歯髄細胞回復能 (J Dent Res 85(9) 824-828, 2006) 等を明らかにした。また再生療法に関する研究成果として、線維芽細胞増殖因子 (FGF-2) 徐放性ゼラチン粒子による再生象牙質誘導 (J Endod 33(10)1198-1202, 2007), および樹立した象牙芽細胞様細胞株 (KN-3) の石灰化能へのLPSの影響等を明らかにした (J Endod 33(10)1187-1191, 2007)。

以上の国内外における研究動向とこれまでの研究成果から、我々は、スキャフォールドとして細胞を支持すると同時に様々なサイトカインと協調して細胞増殖・分化を誘導する有用なファクターとして、各種GAGを歯髄・根尖歯周組織再生療法に応用する着想に至った。

## 2. 研究の目的

本研究の最終目的は、歯髄・根尖歯周骨組織に存在する歯髄細胞、骨芽細胞、及び組織幹細胞から歯髄・根尖歯周組織の局所的・部分的及び包括的・連続的再生療法を確立することにある。本研究では、(1). 歯髄細胞、骨芽細胞、及び組織幹細胞へのGAGの影響を *in vivo*, *in vitro* 実験系で明らかにすること、及び(2). 齧蝕や根尖病変等で傷害を受けたヒト歯髄及び根尖歯周組織を採取・培養し、GAGの影響を検討するとともに、臨床治療に向けた実践的治療技術を確立することを具体的目的としている。

## 3. 研究の方法

### (1) ヒアルロン酸スポンジの断髄部への応用

ラット歯髄より樹立した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、培地に浸漬した状態で培養した。一定期間経過後、各スポンジの細胞保持力を分析するため、スポンジから漏出した細胞数を測定するとともに、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サイ

トカイン (IL-6, TNF- $\alpha$ ) 発現をRT-PCR法にて測定した。次に、9週齢ラット上顎第一臼歯咬合面から生活歯髄切断を行い、ヒアルロン酸スポンジあるいはコラーゲンスポンジを断髄面上の窩洞に充填・封鎖し、一定期間経過後の歯髄組織変化を組織学的に観察するとともに、充填部における炎症細胞 (好中球) 数と新生血管数を顕微鏡下で測定した。

### (2) ヒアルロン酸の神経細胞分化への影響の検討

NGF 添加により交感神経節ニューロン様細胞に分化するラット副腎髄質褐色細胞腫由来 PC12 細胞を用いた。NGF および 800 kDa ヒアルロン酸の存在下・非存在下で PC12 細胞を培養後、位相差顕微鏡観察下で細胞体最短径の 2 倍長以上の突起を有する neurite positive cell の全細胞数に対する割合を算出するとともに、神経細胞分化マーカーである NF68 発現と MAPK および転写調節因子 CREB のリン酸化をウエスタンブロット法で検討し、更に pCRE-Luc プラスミドをトランスフェクトした PC12 細胞におけるルシフェラーゼ活性の変化を測定することで NGF 誘導性神経突起伸長に対するヒアルロン酸の抑制効果を検討した。また、NGF とヒアルロン酸の相互作用を示す生化学的アフィニティを測定するとともに、ヒアルロン酸レセプターである RHAMM に対する抗体存在下における PC12 細胞の形態変化と p38 MAPK, ERK リン酸化の変化を検討した。

### (3) 歯髄細胞株、象牙芽細胞様細胞株に対する各種刺激の影響

ヒト歯髄由来 LSC2 細胞を、5%FBS を含む DMEM を用いて、37°C, 5%CO<sub>2</sub> の条件下で 24 時間培養した。その後、1% FCS を含む DMEM に培地を交換し、DMSO に溶解した Bis-GMA を各種濃度になるよう培地に添加して、37°C, 5%CO<sub>2</sub> の条件下で培養した。48 時間経過後、LSC2 細胞の増殖能を DNA 合成に伴う BrdU の取り込み量を測定することによって観察した。また、Bis-GMA 添加に伴う細胞周期変化とアポトーシス誘導についてフローサイトメトリーを用いて観察した。

次に、樹立した KN-3 細胞を BMP2 あるいは FGF2 により刺激を行い、細胞増殖能、アルカリフォスファターゼ (ALP) 活性、RT-PCR, ウエスタンブロット法で特異的マーカー (DSP, DMP1, Runx2 等) の発現を検討した。

### (4) 栄養状態と熱刺激の象牙芽細胞様細胞への影響の検討

KN-3 細胞を 96 穴プレートに播種し、1% FBS 添加培地 ( $\alpha$ -MEM) で 43°C, 45 分間の熱刺激を加えた後、細胞数の変化を MTS assay で、細胞周期の変化をフローサイトメトリーで、

RT-PCR法でHSP25と炎症マーカーの発現の変化を確認した。また、p-ニトロフェニルリン酸基室法によりALP活性を、von Kossa染色により石灰化能を確認した。

(5) 骨芽細胞分化における半導体レーザー照射の影響

BMP2刺激により骨芽細胞へ分化することが知られているマウス筋芽細胞株C2C12細胞を用い、BMP2存在下または非存在下でGa-Al-As半導体レーザー(パナソニックP-Laser)を各種条件下で照射した。細胞刺激から72時間後にALP活性測定を、30分後にタンパクを調製し、Smad1/5/8のリン酸化を検討した。また、Id1にルシフェラーゼ遺伝子を細胞に導入し、細胞刺激から24時間後にルシフェラーゼ活性を測定した。さらに、細胞刺激から経時的に全RNAを調製し、Id1, Osterix, Runx2, BMP2/4, IGF-1, Osteocalcin, およびSmad6/7遺伝子の発現を検討した。

(6) NF- $\kappa$ Bシグナル伝達経路とBMP2シグナル伝達経路の相互作用の検討

NF- $\kappa$ BシグナルとBMP/Smadシグナルのクロストークについて詳細に検討するため、胎生13.5日齢の野生型、p65欠損(p65<sup>-/-</sup>)、p50欠損(p50<sup>-/-</sup>)各マウス胎仔から線維芽細胞(MEF)を調製しBMP2の影響を検討した。

#### 4. 研究成果

現在、我々は、本研究成果をトランスレーショナル・リサーチとして臨床応用に結びつけやすくするため、歯髄・根尖歯周組織再生療法技術の基盤とするべく歯科用マイクロスコープを用いて傷害を受けた歯髄・根尖病変組織を採取、細胞単離・培養する手法を現在整備している。

一方、我々は、歯髄・根尖歯周組織の再生を、生体親和性の高いGAGを基盤とした同一材料により部分的・局所的及び包括的・連続的に誘導することを目的に、GAGが歯髄細胞、骨芽細胞、及び組織幹細胞の増殖・分化能に与える影響を実験動物・培養細胞で解析したところ、以下に示す成果が得られた。

(1) ヒアルロン酸スポンジの断髄部への応用

KN-3細胞を各スポンジに播種したところ、コラーゲンスポンジ上では紡錘形で偽足を出して付着するKN-3細胞が観察されたのに対し、ヒアルロン酸スポンジ上では球形のまま付着するKN-3細胞が観察された。炎症性サイトカインであるIL-6発現はヒアルロン酸スポンジにおいて低い傾向が認められた。次に、ラット臼歯断髄部に各スポンジを充填したところ、コラーゲンスポンジ群と比べヒアルロン酸スポンジ群では炎症反応がほとんど認められず残存歯髄と類似した組織構造が観察された。また、スキヤフォールド内

に増殖した新生歯髄組織中に侵入している血管数に有意な差は認められなかったが、炎症細胞数はコラーゲンスポンジ群で有意に多く侵入しているのが観察された。*in vitro* および *in vivo* における実験結果から、ヒアルロン酸スポンジは象牙芽細胞様細胞を含む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ことから、高い歯髄組織親和性を持つスキヤフォールドであることが示唆された。

(2) ヒアルロン酸の神経細胞分化への影響

ヒアルロン酸はPC12細胞のNGF誘導性神経突起伸長、NF68発現、およびMAPK(p38、ERK)とCREBのリン酸化をヒアルロン酸濃度依存性に抑制していた。また、pCRE-LucプラスミドをトランスフェクトしたPC12細胞が示すNGF誘導性ルシフェラーゼ活性はヒアルロン酸により明らかに抑制された。さらに、ヒアルロン酸とNGFの直接相互作用を示す生化学的アフィニティは認められないこと、および抗RHAMM抗体の存在下ではヒアルロン酸によるp38リン酸化抑制は変化しないもののERKリン酸化の抑制は回復されることが明らかとなった。以上の結果は、ヒアルロン酸によるPC12細胞の神経細胞分化抑制にはヒアルロン酸がNGFに結合することによる直接的制御ではなく、RHAMMレセプターを介した間接的制御が関与していることを示唆している。

(3) 歯髄細胞株、象牙芽細胞様細胞株に対する各種刺激の影響

低濃度のBis-GMA添加ではBrdU取り込み量に変化は認められなかったが、Bis-GMA濃度0.25mM以上では、明らかなBrdU取り込み量の減少が認められた。フローサイトメトリーによる解析では、Bis-GMA濃度に依存して細胞周期の変化が認められた。低濃度のBis-GMAでは細胞周期に変化は認められなかったが、Bis-GMA濃度が0.25mM以上では、アポトーシス誘導を示すsub-G1に集積するLSC2細胞数の増加が観察された。以上の結果より、レジン構成成分であるBis-GMAは、ヒト歯髄細胞増殖能を抑制すること、またヒト歯髄細胞へアポトーシスを誘導することが示された。

また、BMP2刺激により、KN-3細胞ではSmadシグナル伝達経路が活性化され、DSP、DMP1の発現に影響があることが示された。FGF2刺激では、細胞突起を伸長する等、KN-3細胞の形態に影響があることが明らかとなった。

(4) 栄養状態と熱刺激の象牙芽細胞様細胞への影響の検討

熱刺激後12時間でKN-3細胞は減少後、増

殖に転じ、増殖能は有意に 10%FBS 添加培地群が高かった。HSP25 発現は熱刺激後 12 時間まで強く認められた。TUNEL 陽性細胞は 1%FBS 添加培地群では非熱刺激および熱刺激群ともに認められたが、10%FBS 添加群では熱刺激群のみに確認された。10%および 1%FBS 添加群共に熱刺激後に細胞周期の停止と死細胞の増加と細胞周期の回復が確認されたが、1%FBS 添加培地群では細胞周期停止が強く回復も遅れ、死細胞数も多かった。炎症マーカーの発現は 1%FBS 添加培地群で発現が強く、消失も遅れた。ALP 活性は 10% FBS 添加培地群では熱刺激による影響に有意差を認めなかったが、1%FBS 添加培地群では熱刺激による活性の低下が確認された。石灰化能については 10%および 1%FBS 添加培地群ともに熱刺激による影響は認められなかった。以上の結果から、熱刺激による象牙芽細胞様細胞への影響は低栄養条件下で増強されることが示唆された。

#### (5) 骨芽細胞分化における半導体レーザー照射の影響

BMP2 とレーザー照射の同時刺激では BMP2 単独刺激と比較して ALP 活性が約 1.5 倍上昇し、多数の ALP 陽性細胞が誘導されるとともに、Smad1/5/8 リン酸化の増強、Id1 転写活性の上昇、および Id1、Osterix、Runx2 および BMP2 遺伝子の発現が上昇した。一方、BMP4、IGF-1、および Smad6/7 遺伝子の発現は変化しなかった。さらに、BMP2 とレーザー照射の同時刺激により ALP および Osteocalcin の発現が増強された。以上の結果は、BMP 刺激時に Ga-Al-As 半導体レーザーを照射すると BMP/Smad シグナルが増強されることによって骨芽細胞分化が促進することを示唆している。

#### (6) NF- $\kappa$ B シグナル伝達経路と BMP2 シグナル伝達経路の相互作用の検討

BMP2 刺激により p65<sup>-/-</sup> MEF で ALP 活性は著明に上昇したが、Smad1/5/8 リン酸化は各 MEF 間で有意差はなかった。p65<sup>-/-</sup> MEF に野生型 p65 を過剰発現させると BMP2 刺激による Id-1 転写活性が著しく抑制されたが、p65 の C 末端側の欠変異体を過剰発現させるとその抑制効果が解除された。さらに、BMP2 のみ、あるいは BMP2 と NF- $\kappa$ B 阻害剤を含有・凍結乾燥した各コラーゲンペレットをマウス背筋膜下に移植したところ、BMP2 と NF- $\kappa$ B 阻害剤を含有したペレットにおいてより骨形成量が増加した。以上の結果より、p65 による BMP シグナルの抑制は p65 の C 末端側が関与することが考えられる。また、NF- $\kappa$ B の選択的阻害は BMP による骨形成の有効な補助薬となる可能性が示唆される。

#### 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 13 件)

- 1). Morotomi T, Kitamura C, Toyono T, Okinaga T, Washio A, Saito N, Nishihara T, Terashita M, Anan H, Effects of Heat Stress and Starvation on Clonal Odontoblast-like Cells, Journal of Endodontics, 査読有, accepted, 2011.
- 2). 中村真理, 柿木保明, 北村知昭, 吉岡 泉, 椎葉俊司, 土生 学, 富永和宏, 寺下正道, 榊原葉子, 上森尚子, 唐木純一, 松崎友祐, 諸富孝彦, 永吉雅人, 木尾哲朗, 尾崎由衛, 福田仁一, 口腔周囲筋の緊張緩和とリラクゼーションにおけるアロマテラピートリートメントの有効性について, アロマテラピー学雑誌, 査読有, 11(1), 2011, 17-24.
- 3). Hirata S, Kitamura C, Fukushima H, Nakamichi I, Abiko Y, Terashita M, Jimi E: Low-level laser irradiation enhances BMP-induced osteoblast differentiation by stimulating the BMP/Smad signaling pathway, Journal of Cellular Biochemistry, 査読有, 111, 2010, 1445-1452.
- 4). Yano J, Kitamura C, Nishihara T, Tokuda, M, Washio A, Chen K-K, Terashita M, Apoptosis and survivability of human dental pulp cells under exposure to Bis-GMA, Journal of Applied Oral Science, 査読有, 2011 accepted.
- 5). 北村知昭, 西野宇信, 矢野淳也, 永吉雅人, 鷲尾絢子, 平田志津, 吉居慎二, 西藤法子, 歯科保存学の現状と先端科学, 九州歯科学会雑誌, 査読有, 64(3), 2010, 66-73.
- 6). 北村知昭, 西原達次, 寺下正道, 残存歯髄からの誘導による象牙質・歯髄複合体の再生 In: 誌上シンポジウム 象牙質・歯髄複合体再生療法の近未来, 日本歯科評論, 査読無, 72(2), 2010, 139-142.
- 7). Inuyama Y, Kitamura C, Nishihara T, Morotomi T, Nagayoshi M, Tabata Y, Matsuo K, Chen K-K, Terashita M, Effects of hyaluronic acid sponge as a scaffold on odontoblastic cell line and amputated dental pulp, Journal of Biomedical Materials Research: Part B - Applied Biomaterials, 査読有, 92(1), 2010, 120-128.
- 8). 吉田真理, 北村知昭, 藤本陽子, 諸富孝彦, 永吉雅人, 波多野圭紀, 柿木保明, 寺下正道, 歯科治療へのアロマテラピー応用が患者不安の改善に与える効果, アロ

- マテラピー学雑誌, 査読有, 9(1), 2009, 47-54.
- 9). Noguchi F, Kitamura C, Nagayoshi M, Chen K-K, Terashita M, Nishihara T, Ozonated water improves lipopolysaccharide-induced responses of odontoblast-like cell line, Journal of Endodontics, 査読有, 35(5), 2009, 668-672.
  - 10). Ishimatsu H, Kitamura C, Morotomi T, Tabata Y, Nishihara T, Chen K-K, Terashita M, Formation of dentinal bridge on surface of regenerated dental pulp in dentin defects by controlled release of fibroblast growth factor-2 from gelatin hydrogels, Journal of Endodontics, 査読有, 35(6), 2009, 858-865.
  - 11). Washio A, Kitamura C, Jimi E, Terashita M, Nishihara T, Mechanisms involved in suppression of NGF-induced neuronal differentiation of PC12 cells by hyaluronic acid, Experimental Cell Research, 査読有, 315(17), 2009, 3036-3043.
  - 12). 永吉雅人, 北村知昭, 安保直樹, 矢野淳也, 諸富孝彦, 市丸美希, 尾川幸雄, 寺下正道, 臨床をシミュレートした環境下でのNi-Tiファイルによる根管形成に与える臨床経験の影響 第1報 湾曲の少ない根管における根管形成所要時間と根管壁の評価, 日本歯内療法学雑誌, 査読有, 29(2), 2008, 113-118.
  - 13). 坂本英治, 諸富孝彦, 北村知昭, 椎葉俊司, 矢野淳也, 永吉雅人, 寺下正道, 仲西修, 風間富栄, 難治性口腔顔面痛への直線偏光近赤外線の効果についての検討, 日本レーザー治療学会誌, 査読有, 6(2), 2008, 22-25.
  - 14). 諸富孝彦, 北村知昭, 寺下正道, 象牙質-歯髄複合体の創傷治癒解明と再生療法確立, 九州歯科学会雑誌, 査読有, 62(3・4), 2008, 115-118.
- [学会発表] (計 61 件)
- 1). Hirata S, Kitamura C, Terashita M, Jimi E, NF- $\kappa$ B inhibits BMP-induced osteoblast differentiation by interfering DNA-binding of Smad, Research Day 2011 in The University of Toronto, 2011年2月15日, Toronto.
  - 2). 平田志津, 北村知昭, 寺下正道, 自見英治郎, 転写因子NF- $\kappa$ BはSmadのDNA結合を抑制することでBMPシグナルを抑制する, 口腔先端応用医科学研究会第3回学術会議, 2011年1月22日, 東京.
  - 3). 北村知昭, 現代の歯の治療と再生医療, 平成22年度北九州4大学スクラム講座, 2010年12月5日, 北九州.
  - 4). Washio A, Kitamura C, Terashita M, Nishihara T, Effects of Gelatin Sponges on Several Cell Lines, The 58th Annual Meeting of Japanese Association for Dental Research, 2010年11月20-21日, 北九州.
  - 5). 鷺尾絢子, 寺下正道, 西原達次, 田畑泰彦, 北村知昭, 各種培養細胞株へ及ぼすゼラチンスポンジの影響, 第8回日本再生歯科医学会学術大会・総会, 2010年10月30日, 名古屋.
  - 6). 鷺尾絢子, 寺下正道, 北村知昭, ゼラチンスポンジが各種培養細胞株に与える影響, 第133回日本歯科保存学会, 2010年10月28-29日, 岐阜.
  - 7). 平田志津, 寺下正道, 北村知昭, 半導体レーザーはBMPによる骨芽細胞分化を促進する, 第133回日本歯科保存学会, 2010年10月28-29日, 岐阜.
  - 8). 諸富孝彦, 西藤法子, 鷺尾絢子, 北村知昭, 寺下正道, 阿南 壽, 低栄養条件下における熱刺激の象牙芽細胞様細胞に及ぼす影響, 第133回日本歯科保存学会, 2010年10月28-29日, 岐阜.
  - 9). 平田志津, 福島秀文, 片桐岳信, 諸富孝彦, 青木和弘, 永野健一, 大谷啓一, 北村知昭, 寺下正道, 自見英治郎, NF- $\kappa$ Bシグナルの抑制はBMPによる骨形成を促進する, 第52回歯科基礎医学会学術大会・総会, 2010年9月20-22日, 東京.
  - 10). 自見英治郎, 平田志津, 北村知昭, 寺下正道, 安孫子宜光, 福島秀文, Ga-Al-As半導体レーザー照射はBMPによる骨芽細胞分化を促進する, 第52回歯科基礎医学会学術大会・総会, 2010年9月20-22日, 東京.
  - 11). 平田志津, 北村知昭, 寺下正道, Ga-Al-As半導体レーザー照射はBMPによる骨芽細胞分化を促進する, 第31回日本歯内療学会学術大会, 2010年7月24-25日, 東京.
  - 12). Hirata S, Fukushima H, Morotomi T, Aoki K, Nagano K, Ohya K, Kitamura C, Terashita M, Jimi E, Inhibition of NF- $\kappa$ B enhances BMP-induced bone formation, 88th General Session and Exhibition of International Association for Dental Research, 2010年7月14-17日, Barcelona.
  - 13). 諸富孝彦, 北村知昭, 鷺尾絢子, 寺下正道, 阿南 壽, 軽度の熱刺激は象牙芽細胞様細胞の熱耐性を向上させる, 第132回日本歯科保存学会, 2010年6月4-5日, 熊本.
  - 14). 北村知昭, 歯の治療と歯の再生, 平成21年度九州歯科大学学術研究費重点配分

- 研究成果発表会, 市民公開講座, 2010年5月29日, 北九州.
- 15). 寺下正道, 鷺尾絢子, 北村知昭, 西原達次, 象牙芽細胞様細胞の分化におけるBMP-2の影響, 第70回九州歯科学会総会記念学会, 2010年5月22-23日, 北九州.
  - 16). 平田志津, 福島秀文, 諸富孝彦, 進正史, 北村知昭, 寺下正道, 自見英治郎, NF- $\kappa$ BシグナルとBMPシグナルのクロストークについての検討, 第70回九州歯科学会総会記念学会, 2010年5月22-23日, 北九州.
  - 17). Washio A, Kitamura C, Morotomi T, Terashita M, Nishihara T, Effects of BMP-2 on odontoblast-like cells, The second Japan-Korea joint symposium on Bio-microsensing technology, 2009年11月13日, Kitakyushu.
  - 18). Hirata S, Fukushima H, Shin M, Yamazaki M, Takahashi T, Kitamura C, Terashita M, Jimi E, TNF $\alpha$  represses BMP signaling by interfering with the DNA binding of Smads through the activation of NF- $\kappa$ B. The second Japan-Korea joint symposium on Bio-microsensing technology, 2009年11月13日, Kitakyushu.
  - 19). 諸富孝彦, 北村知昭, 寺下正道, 象牙芽細胞様細胞株の有する熱耐性および熱馴化能, 第131回日本歯科保存学会, 2009年10月29-30日, 仙台.
  - 20). 鷺尾絢子, 北村知昭, 諸富孝彦, 寺下正道: 各種サイトカインが象牙芽細胞様細胞に及ぼす影響. 第131回日本歯科保存学会, 2009年10月29-30日, 仙台.
  - 21). 平田志津, 福島秀文, 諸富孝彦, 北村知昭, 自見英治郎, 寺下正道, 転写因子 NF- $\kappa$ BはBMPによる骨芽細胞分化を抑制する, 日本再生歯科医学会学術大会, 2009年9月12日, 北九州.
  - 22). 北村知昭, 象牙質-歯髄複合体の局所的再生, In: シンポジウム (I) 歯・歯周組織の再生, 日本再生歯科医学会学術大会, 2009年9月12日, 北九州.
  - 23). 鷺尾絢子, 北村知昭, 諸富孝彦, 寺下正道, 西原達次, 象牙芽細胞様細胞におよぼす各種サイトカインの影響, 第51回日本歯科基礎医学会学術大会・総会, 2009年9月9-11日, 新潟.
  - 24). 平田志津, 福島秀文, 進正史, 片桐岳信, 北村知昭, 寺下正道, 自見英治郎: NF- $\kappa$ BによるBMPシグナルの抑制機構の解明. 第51回日本歯科基礎医学会学術大会・総会, 2009年9月9-11日, 新潟.
  - 25). 諸富孝彦, 北村知昭, 寺下正道, 熱刺激後の象牙芽細胞様細胞における炎症反応と石灰化能の維持, 第130回日本歯科保存学会, 2009年6月11-12日, 札幌.
  - 26). 平田志津, 自見英治郎, 北村知昭, 寺下正道, BMPによる骨芽細胞分化におけるNF- $\kappa$ Bシグナルの生理的役割, 第130回日本歯科保存学会, 2009年6月11-12日, 札幌.
  - 27). 北村知昭, 残存歯髄からの誘導による象牙質-歯髄複合体の再生 In: シンポジウム II 象牙質歯髄複合体再生医療の現状と展望, 第130回日本歯科保存学会, 2009年6月11-12日, 札幌.
  - 28). 平田志津, 福島秀文, 北村知昭, 寺下正道, 自見英治郎, 歯科用レーザーがBMP刺激による骨芽細胞分化に与える影響, 第69回九州歯科学会, 2009年5月30-31日, 北九州.
  - 29). 諸富孝彦, 北村知昭, 豊野孝, 豊島邦昭, 西原達次, 寺下正道, 熱刺激に対する象牙芽細胞様細胞の耐性と炎症応答, 第69回九州歯科学会, 2009年5月30-31日, 北九州.
  - 30). 寺下正道, 西原達次, 北村知昭, 細胞外基質と増殖因子を応用した歯髄及び歯周組織の再生医療に関する研究, 第69回九州歯科学会, 2009年5月30-31日, 北九州.
  - 31). Morotomi T, Kitamura C, Nishihara T, Terashita M Effect of heat stress on rat clonal odontoblast-like cells, 87th General Session and Exhibition of International Association for Dental Research, 2009年4月1-4日, Florida.
  - 32). 北村知昭, 西原達次, 寺下正道, 新たな歯科医療診断器機開発と歯の再生医療を見据えたトランスレーショナルリサーチの展開, 歯工学連携キックオフシンポジウム, 2009年1月16日, 北九州.
  - 33). 諸富孝彦, 北村知昭, 西原達次, 寺下正道, 熱刺激が象牙芽細胞様細胞に与える影響, 歯工学連携キックオフシンポジウム, 2009年1月16日, 北九州.
  - 34). 石松宏隆, 北村知昭, 諸富孝彦, 寺下正道, FGF-2濃度の違いが歯の再生に与える影響, 歯工学連携キックオフシンポジウム, 2009年1月16日, 北九州.
  - 35). 犬山喜夫, 北村知昭, 諸富孝彦, 永吉雅人, 西原達次, 寺下正道, 歯の再生療法におけるヒアルロン酸スポンジの検討, 歯工学連携キックオフシンポジウム, 2009年1月16日, 北九州.
  - 36). 野口扶美子, 北村知昭, 永吉雅人, 寺下正道, 西原達次, 象牙芽細胞様細胞に対するLPS活性はオゾン水処理により失活する, 歯工学連携キックオフシンポジウム, 2009年1月16日, 北九州.
  - 37). 鷺尾絢子, 北村知昭, 寺下正道, 西原達次, ヒアルロン酸による神経分化抑制機構の解明, 歯工学連携キックオフシンポジウム, 2009年1月16日, 北九州.

- 38). 平田志津, 福島秀文, 自見英治郎, 北村知昭, 寺下正道, 骨芽細胞分化に半導体レーザー照射が与える影響, 歯工学連携キックオフシンポジウム, 2009年1月16日, 北九州.
- 39). 鷺尾絢子, 北村知昭, 寺下正道, 西原達次, ヒアルロン酸による PC12 細胞の NGF 誘導性神経突起伸長抑制効果発現メカニズムの解析, 第 50 回日本歯科基礎医学会学術大会・総会, 2008年9月23-25日, 東京.
- 40). 野口扶美子, 北村知昭, 永吉雅人, 寺下正道, 西原達次, LPS の象牙芽細胞に対する活性はオゾン水により失活する, 第 50 回日本歯科基礎医学会学術大会・総会, 2008年9月23-25日, 東京.
- 41). 犬山喜夫, 北村知昭, 諸富孝彦, 永吉雅人, 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, 2008年11月6-7日, 富山.
- 42). 諸富孝彦, 北村知昭, 寺下正道, 象牙芽細胞様細胞の有する象牙質形成能への熱刺激の影響, 第 129 回日本歯科保存学会, 2008年11月6-7日, 富山.
- 43). 鷺尾絢子, 北村知昭, 寺下正道, ヒアルロン酸による PC12 細胞の神経突起伸長抑制効果における RHAMM レセプターの関与, 第 129 回日本歯科保存学会, 2008年11月6-7日, 富山.
- 44). 石松宏隆, 北村知昭, 諸富孝彦, 田畑泰彦, 寺下正道, FGF-2 濃度の違いが象牙質欠損部における硬組織誘導に与える影響, 第 129 回日本歯科保存学会, 2008年11月6-7日, 富山.
- 45). 平田志津, 自見英治郎, 北村知昭, 寺下正道, BMP による骨芽細胞分化における半導体レーザー照射の効果, 第 129 回日本歯科保存学会, 2008年11月6-7日, 富山.
- 46). 北村知昭, 慢性的・持続的歯痛への歯内治療によるアプローチとその限界 In: 歯科治療での疼痛 (シンポジウム), 第 9 回口腔顔面痛学会, 2008年7月19-20日, 福岡.
- 47). Inuyama Y, Kitamura C, Ishimatsu H, Morotomi T, Nagayoshi M, Nishihara T, Terashita M, Effects of hyaluronic acid on rat pulp regeneration, 86th General Session and Exhibition of International Association for Dental Research, 2008年7月2-5日, Toronto.
- 48). Ishimatsu H, Kitamura C, Inuyama Y, Morotomi T, Nishihara T, Terashita M, Effects of FGF -2 concentration on regenerated dentin structures, 86th General Session and Exhibition of International Association for Dental Research, 2008年7月2-5日, Toronto.
- 49). Noguchi F, Kitamura C, Nagayoshi M, Terashita M, Nishihara T, Ozonated water inhibits effects of lipopolysaccharide on odontoblast-like cells, 86th General Session and Exhibition of International Association for Dental Research, 2008年7月2-5日, Toronto.
- 50). Washio A, Kitamura C, Terashita M, Nishihara T, Effect of hyaluronic acid on neurite outgrowth of PC12 cells, 86th General Session and Exhibition of International Association for Dental Research, 2008年7月2-5日, Toronto.
- 51). 諸富孝彦, 北村知昭, 豊野 孝, 母里公平, 寺下正道, 象牙芽細胞様細胞株 (KN-3) へヒートストレスが与える影響, 第 128 回日本歯科保存学会, 2008年6月5-6日, 新潟.
- 52). 野口扶美子, 北村知昭, 永吉雅人, 寺下正道, オゾン水による象牙芽細胞様細胞へのリポ多糖の効果の抑制. 第 128 回日本歯科保存学会, 2008年6月5-6日, 新潟.
- 53). 石松宏隆, 諸富孝彦, 北村知昭, 田畑泰彦, 寺下正道, ゼラチン粒子から徐放される FGF-2 濃度が象牙質/歯髄複合体再生に与える影響, 第 128 回日本歯科保存学会, 2008年6月5-6日, 新潟.
- 54). 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, 2008年6月5-6日, 新潟.
- 55). 鷺尾絢子, 北村知昭, 大木達雄, 寺下正道, ヒアルロン酸は PC12 細胞の神経突起誘導を抑制する, 第 128 回日本歯科保存学会, 2008年6月5-6日, 新潟.
- 56). 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, 2008年5月31日, 6月1日, 北九州.
- 57). 野口扶美子, 北村知昭, 永吉雅人, 寺下正道, 西原達次, オゾン水による象牙芽細胞様細胞へのリポ多糖の効果の抑制, 第 68 回九州歯科学会, 2008年5月31日, 6月1日, 北九州.
- 58). 石松宏隆, 北村知昭, 諸富孝彦, 西原達次, 寺下正道, FGF-2 濃度の違いが象牙質/歯髄複合体再生への与える影響, 第 68 回九州歯科学会, 2008年5月31日, 6月1日, 北九州.
- 59). 鷺尾絢子, 北村知昭, 寺下正道, 西原達次, PC12 細胞の NGF 誘導性神経突起伸長に対するヒアルロン酸の抑制効果, 第 68 回九州歯科学会 2008年5月31日, 6月1日, 北九州.

60). 諸富孝彦, 北村知昭, 豊野 孝, 豊島邦昭, 西原達次, 寺下正道, ヒートストレスの象牙芽細胞様細胞株(KN-3)へ与える影響, 第68回九州歯科学会, 2008年5月31日, 6月1日, 北九州.

61). 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 2008年5月31日, 6月1日, 北九州.

[図書] (計3件)

- 1). 北村知昭, 医歯薬出版株式会社, 必修臨床研修歯科医ハンドブック第2版(竹原直道, 廣藤卓雄 監修), 2010, 376(104-105, 106-108, 109-110, 115-119, 120-121, 122-123, 131-134, 135-137, 311-314).
- 2). 寺下正道, 北村知昭, 医歯薬出版株式会社, 保存修復クリニカルガイド第2版(千田 彰, 寺下正道, 田上順次, 奈良陽一郎, 宮崎真至, 片山 直 編), 2009, 177(1-11).
- 3). 寺下正道, 北村知昭, 諸富孝彦, 医歯薬出版株式会社, 保存修復専門用語集(日本歯科保存学会編), 2008, 160.

[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]

なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

北村 知昭 (KITAMURA CHIAKI)

九州歯科大学・歯学部・教授

研究者番号: 50265005

(2) 研究分担者  
( )

研究者番号:

### (3) 連携研究者

西原 達次 (NISHIHARA TATSUJI)

九州歯科大学・歯学部・教授

研究者番号: 80192251