

平成 22 年 4 月 1 日現在

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20791392

研究課題名（和文） 再植歯におけるビスホスホネートの効果

研究課題名（英文） Effect of bisphosphonate on tooth replantation.

研究代表者

遠藤 真 (ENDO MAKOTO)

岩手医科大学・歯学部・助教

研究者番号：50347879

研究成果の概要（和文）：

象牙板を蒸留水に 20 分浸漬した Control 群、EDTA 水溶液に 20 分浸漬した群、フッ化ナトリウムに 20 分浸漬した群、ビスホスホネート製剤としてパミドロン酸二ナトリウム 20 分浸漬した群およびパミドロン酸二ナトリウム 24 時間浸漬した群に分け、その上で破骨前駆細胞を 14 日間培養し吸収窩の観察と計測を行った。パミドロン酸二ナトリウム群にフッ化ナトリウム群と同等の象牙質吸収抑制効果があることが示された。またセメント質においてもパミドロン酸二ナトリウムでは吸収窩と破骨細胞の形成はみられなかった。

研究成果の概要（英文）：Control group that soaked dentin board in distilled water for 20 minutes, that soaked dentin board in EDTA solution for 20 minutes, that soaked dentin board in sodium fluoride for 20 minutes, that soaked pamidronate disodium as bisphosphonate for 20 minutes, It divides into the group that soaked the dentin board in the pamidronate disodium for 24 hours, And the Osteoclast Precursor Cell was cultured for 14 days, and the observation and the measurement of Resorption lacuna were done.

It was shown that there was dentin Absorption controlling effect equal with sodium fluoride in Pamidronate Disodium.

Additionally, osteoclasts was not formed in Pamidronate Disodium in Dental cementum.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	700,000	210,000	910,000
2009 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,800,000	540,000	2,340,000

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：歯牙再植、ビスホスホネート、破骨細胞

1. 研究開始当初の背景

歯牙再植は、外傷による脱落歯の整復、意図

的再植など歯科の臨床において日常的に行われている。その予後は、歯根膜の活性状態

に大きく左右される。一般に、歯根膜の細胞が活着している場合の予後は比較的良好であるが、歯槽窩外での時間が長く経過し歯根膜の細胞が失活している場合、歯牙は置換性骨吸収、表面吸収、炎症性吸収などにより脱落する場合もあり予後は悪い。これらの吸収を直接おこなっている細胞は、破骨細胞である。破骨細胞は血球に由来した多核の大型の細胞であり骨を吸収する細胞であるが、健常な人体においても骨のリモデリングなどを行う人体の恒常性を維持するうえで重要な細胞である。歯牙再植時において、破骨細胞の働きを抑制できれば骨性の癒着や歯根吸収を防ぐことができるかもしれない。

古くからこれらの歯根表面を種の薬剤で処理し歯根の吸収を阻害させる実験が試みられている。その中で、臨床的にある程度の結果を出している薬剤としてフッ化物があげられる。フッ素が根面の硬組織に沈着し、吸収の阻害をするのであるが、現在のところこれ以外に有効な薬剤はない。

近年、よく知られるようになってきているビスホスホネート製剤(以下BP)は、骨組織に沈着しそれを吸収した破骨細胞の活性を特異的かつ強力に抑制することから、骨粗鬆症や高カルシウム血症の治療薬として広く用いられている。BPは、骨のハイドロキシアパタイトと結合し、骨表面に接着した破骨細胞が骨を吸収することにより細胞内に取り込まれる。BPを取り込んだ破骨細胞は刷子縁が消失し、やがてアポトーシスを誘導するとされる。歯牙再植時に、このBPをセメント質および歯槽骨に沈着させることで骨性の癒着、異常

吸収をある程度コントロールすることができれば、より良い予後が期待できる。また、BPがセメント質にも沈着することは、まだ証明されてはいない。

2. 研究の目的

そこで本研究では、培養実験下、および動物実験下において、BPの効果とその他の薬剤の効果を比較検討する。現在、著者が行った培養実験である程度の結果が得られており、BPはフッ化ナトリウムと同等の破骨細胞の吸収抑制効果が認められている。BPで処理した象牙質片を培養した結果、フッ化ナトリウムと同等の破骨細胞の吸収抑制効果が認められ、また処理時間を20分でも一昼夜でも差はなかった。EDTAで処理した場合、吸収窩は浅いが広い範囲で形成された。これらの吸収窩は面積をすべて計測し統計処理を行った。これらの結果からBPが歯根吸収の抑制にフッ化物と同程度の効果が期待できることがわかった。

本研究では、歯根吸収抑制に有効な薬剤を探る。薄切した象牙板をBPなどの各種薬剤で処理し、この上で破骨細胞を培養し、培養終了後に象牙板に形成された吸収窩の大きさを計測し、破骨細胞に対する吸収抑制効果がしめされたので、今回は骨、象牙質においてはBPの沈着がすでにわかっているが、セメント質に沈着するかは定かではないため、牛歯から採取したセメント質と象牙質をBPで処理しこの試料上でも培養しセメント質における効果を実証した。

3. 研究の方法

はじめに *in vitro* における各種薬剤の破骨細胞の吸収抑制効果は以前の実験から明らかにし、セメント質と象牙質とでの効果の違いを明らかにするために破骨細胞を各種薬剤で処理したセメント質と象牙質と一緒に含まれる試料の上で培養し、形成された吸収窩などを評価した。

この実験では歯根の吸収の阻害に現在に効果的だとされるフッ化物、根面のデブラトメント後の処理に利用されている EDTA、破骨細胞の吸収抑制効果があるために骨粗鬆症や高カルシウム血症の治療薬として用いられている BP の効果の差を始めに象牙板上で比較し次いでセメント質でも同様にあるか否かを検証した。

直径 6 mm の象牙板に EDTA、フッ化ナトリウム、BP としてパミドロン酸二ナトリウム、コントロールとして蒸留水に浸漬した。パミドロン酸二ナトリウムには 24 時間浸漬した群をもうけたが他は 20 分間浸漬した。

歯根膜を取り除いた牛歯歯根の根尖付近を薄切しセメント-象牙境付近で象牙質とセメント質が同量になるようトリミングし超音波洗浄し、各種薬剤に浸漬した。96 穴マルチウェル内に各群の試料をあらかじめ静置し、その上に破骨細胞前駆細胞を播種し、5%CO₂、37°C の条件下で 14 日間培養する。培養液は M-CSF、RANKL が添加したもので 4 日毎に交換した。これらの試料を光顕および走査電顕で吸収窩を観察した。また形成された破骨細胞自体も象牙質上とセメント質上で形態的に違いがあるかを検証した。一部の

試料には TRAP 染色（歯や骨を吸収する細胞を染め出す染色法）を施した。

4. 研究成果

象牙板の吸収窩の面積は、EDTA 群で 227.7 ± 73.3mm²、Control 群で 50.3 ± 34.4mm²、フッ化ナトリウム群で 3.9 ± 2.1mm²、パミドロン酸二ナトリウム 20 分群では 2.7 ± 1.8mm²、パミドロン酸二ナトリウム 24 時間群で 2.4 ± 2.3mm² であった。フッ化ナトリウム群、パミドロン酸二ナトリウム 20 分群およびパミドロン酸二ナトリウム 24 時間群の 3 群間には、統計的有意差が認められなかった。これら 3 群はコントロール群および EDTA 群に比較し有意に小さな値を示した。また、EDTA 群は Control 群に比較し有意に大きな面積を示した。以上のことよりパミドロン酸二ナトリウム群にフッ化ナトリウム群と同等の象牙質吸収抑制効果があることが示された。

牛歯の歯根から作製した象牙質板とセメント質板ではコントロール群では象牙質に較べセメント質で TRAP 陽性細胞も吸収窩の形成も少なく、BP 群では象牙質、セメント質ともに TRAP 陽性細胞も吸収窩の形成もほとんどみられず、特にセメント質では皆無だった。

現在、根面の処理剤としてフッ化ナトリウムでの処理が、最も効果的であるとされており、本研究においても NaF 群では高い抑制効果を示した。これは再植歯においては、セメント質の層にフッ化イオンが結合することにより、歯根吸収に対する抵抗性を獲得

すると考えられていることから今回の結果も同様の作用によると思われる。

一方、EDTA群では広い範囲に吸収が生じたが、多くの再植歯の研究の中で、特に歯根の歯面を脱灰する作用を有する薬剤で処理した場合は、歯根吸収の抑制効果は示さないことが報告されている。しかし、歯周治療における歯根面のデブライドメントの後にEDTAやクエン酸などで根面を処理するが、特にEDTAで処理された面では線維芽細胞の付着や増殖の促進が報告されており、一概に歯牙再植への応用ができないとは結論できず、さらなる検討が必要と思われる。

従来から行われているビスホスホネート製剤の基礎研究では、破骨細胞への吸収抑制効果を検証するための吸収窩の測定に材料として象牙板や骨片が用いられてきた。それゆえ、硬組織に沈着し破骨細胞の働きを抑制するのは既成の事実であるが、歯根面に対する処理剤としての有効性は他剤との比較によってより明確になると考えられる。本研究において、BPのパミドロン酸二ナトリウム群でも、吸収抑制効果がみられた。これは現在、歯根面の吸収抑制に最も効果的であるとされるフッ化ナトリウム群と同等の結果であった。そのため、フッ化ナトリウムと同様に歯根吸収の抑制のための根面処理剤としての利用が可能かもしれない。

近年、BPを全身投与された患者に特有の顎骨壊死が報告されている。これらの患者の疾患は多発性骨髄腫、乳癌、骨粗鬆症、前立腺癌と多岐に渡っている。この顎骨壊死の発生機序は、口腔内細菌感染による炎症や外傷

による腐骨、顎骨炎病巣が形成され、本来であれば血管新生や破骨細胞により除去される治癒機転が、BPにより阻害されることにより発生する可能性があると考えられているが、不明な点も多い。この顎骨壊死は発症すると極めて治療が困難である。そのためこれらの患者に対する歯科治療は、慎重を期して行うことが望まれている。これらの問題点から局所利用といえども現在のところはBPの使用は慎重を要する。

今回、試料として象牙板を用いたが、実際の臨床において脱落歯の歯根膜を除去し、薬剤を作用させるのは、歯根象牙質表面というよりも、むしろそのさらに表面のセメント質である可能性が高いため、セメント質でも検証した。その結果、セメント質においても有用であることがわかった。既存の研究では、BPは骨や象牙質に対しては、良く沈着することが知られているが、セメントに関しての効果の報告は、皆無であった。そのため本研究での成果は有用であると考えられた。

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1件)

The effect of bisphosphonate for osteoclastic resorption on dentin and cementum. Endo, M., Kikuchi, M., Terata, R., Kubota, M. Spring Scientific Meeting 37th of Korean Academy of Endodontics. The 6th Joint Scientific Meeting between Japan Endodontic Association and Korean Academy of Endodontics. April 26-27, 2008 Gwangju, Korea.

〔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

遠藤 真 (ENDO MAKOTO)
岩手医科大学・歯学部・助教
研究者番号：50347879

(2) 研究分担者

()
研究者番号：

(3) 連携研究者

()
研究者番号：