

平成 22 年 6 月 14 日現在

研究種目：若手研究 (B)
 研究期間：2008 ~ 2009
 課題番号：20791480
 研究課題名 (和文) ポリホスホセリンを用いたエナメル質再生に関する研究
 研究課題名 (英文) The study on regeneration of dental enamel using phosphoserine polymer
 研究代表者
 横山 三菜 (YAMAGUCHI MINA)
 神奈川歯科大学・小児歯科学・助教
 研究者番号：10386849

研究成果の概要 (和文)：

ホスホセリンをポリマーとしたポリホスホセリンやホスホセリンとアスパラギン酸の 1 対 1 の共重合体がアパタイトに吸着し、硬組織の形成を促進する。牛歯エナメル質表面に作用させた場合、ポリホスホセリンでは、硬組織形成が早く、エナメル質小窩裂溝入口を硬組織で塞いでしまうため、ホスホセリンとアスパラギン酸の共重合体にて、小窩裂溝内部の石灰化を促す割合を検討する必要がある。

研究成果の概要 (英文)：

Phosphoserine polymer and Copolymers of phosphoserine and aspartic acid that makes phosphoserine polymer adsorb apatite, and the formation of the hard tissue is promoted. When crystallization on the enamel surface of the bovine tooth treated with phosphoserine polymer, the hard tissue was made early, the entrance of the grooves between the enamel rods on the tooth surface was closed with the hard tissue. It is necessary to examine the ratio in which a calcification inside in the ditch is urged by the grooves between the enamel rods on the tooth surface.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2009 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,100,000	630,000	2,730,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・歯科医用工学・再生歯学

キーワード：ホスホセリン、エナメル質、再生

1. 研究開始当初の背景

小児歯科臨床においては、幼若永久歯は歯質が未成熟で齲蝕感受性が高く、齲蝕予防処置として小窩裂溝充填塞法は重要である。現在使用されている小窩裂溝充填塞材料は、グラスアイオノマーセメントおよびレジン系のものであるが、どちらの材料も防湿処理が小窩裂溝充填塞材と歯質の接着に影響する。とくに、レジン系小窩裂溝充填塞材は投錨効果によって歯質と接着させるためには、酸処理によって歯質を脱灰する必要がある、このことは齲蝕予防という観点からすると目的に反している。

そこで、歯質を脱灰することなくハイドロキシアパタイトに類似した構造物によって小窩裂溝を封鎖し、さらに結晶の硬度が維持できれば、レジン修復材に変わる新しい修復材料として応用していくことが可能であると考えている。

2. 研究の目的

齲蝕予防のためのシーラント材（小窩裂孔充填塞材）として応用可能であるかを明らかにするため、合成リン酸化ポリペプチドのアパタイトへの吸着速度および吸着量について測定、ポリホスホセリンおよびポリホスホセリンとアスパラギン酸の共重合体の硬組織形成能の計測、生成された石灰化硬組織がハイドロキシアパタイトであることの確認を行う。

3. 研究の方法

小児歯科臨床において、ポリホスホセリンおよびホスホセリンとアスパラギン酸の共重合体を用いて、小窩裂溝充填塞材料として応用可能かどうか基礎的な研究を行った。

- (1) アパタイトとの吸着速度および吸着量の測定
- (2) 牛歯エナメル質への硬組織形成
- (3) 生成した硬組織の組成確認

4. 研究成果

(1) ポリホスホセリンのアパタイトへの吸着速度および吸着量の測定

ポリホスホセリン (Poly[Ser(P)]), ホスホセリン (Ser(P)), ポリホスホセリンとアスパラギン酸の共重合体 (Copoly[Ser(P)⁵⁰Asp⁵⁰]), ポリアスパラギン酸 (Poly(Asp)), アパタイトへの吸着速度および吸着量を計測した結果、ポリホスホセリンは5分で100%、ポリホスホセリンとアスパラギン酸の共重合体は5分で約80%がアパタイトに吸着した。

ポリホスホセリン, ホスホセリン, ポリホスホセリンとアスパラギン酸の共重合体, ポリアスパラギン酸, アパタイトへの吸着量を表1に示す。

表1 カルシウムへの吸着量

Sample	The amount of reacted calcium(μM)
Poly[Ser(P)]	12.2
Copoly[Ser(P) ⁵⁰ Asp ⁵⁰]	6.5
Poly(Asp)	1.0
Ser(P)	0.0

(2) ポリホスホセリンおよびポリホスホセリンとアスパラギン酸の共重合体の硬組織形成能

酸処理した牛歯の表面にポリホスホセリンを塗布し、リン酸カルシウム飽和溶液に浸漬した結果、歯の表面に硬組織形成が認められ、結晶成長に優れていることが確認できた。

ポリホスホセリンおよびポリホスホセリンとアスパラギン酸の共重合体およびコントロールとしてH₂Oを作用後、カルシウム飽和溶液に浸漬した牛歯エナメル質表面および断面の電子顕微鏡写真を図1-3に示す。

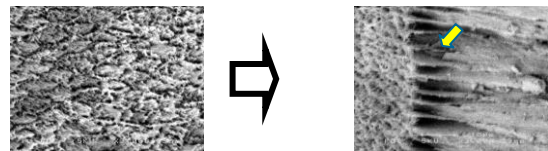


図1. Poly[Ser(P)]水溶液と第3リン酸カルシウム飽和溶液の交互浸漬 (×3000)

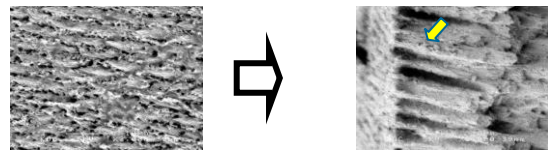


図2. Copoly[Ser(P)⁵⁰Asp⁵⁰]水溶液と第3リン酸カルシウム飽和溶液の交互浸漬 (×3000)

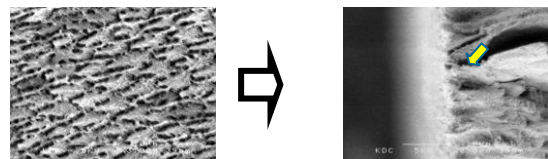


図3. H₂Oと第3リン酸カルシウム飽和溶液の交互浸漬 (×3000)

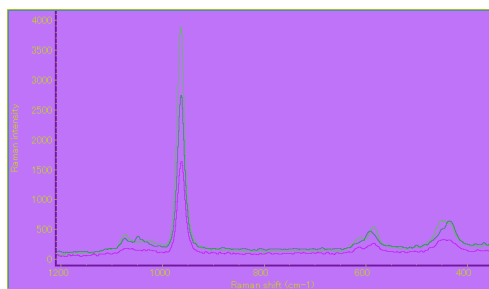
ポリホスホセリンを作用させた表面では明らかな結晶成長を確認することが出来たが、断面像では酸処理によりできたエナメル小柱の間隙に結晶成長は起こっていない。エナメル小柱間隙内に結晶が成長する前に、エナメル質表層に結晶が形成され、小柱間隙にカルシウムイオンが供給されなかったためと考えられる。

ポリホスホセリンとアスパラギン酸の共重合体では、エナメル小柱の間隙内にもわずかにあるが結晶成長を確認した。ポリホスホセリンとアスパラギン酸の共重合体では結晶の成

長は緩やかであるため、エナメル小柱の間隙内にも結晶が成長したと考えられる。

(3) 生成した硬組織の組成確認

ポリホスホセリン、ポリホスホセリンとアスパラギン酸の共重合体を牛歯エナメル質に作用後カルシウム飽和溶液に浸漬し生成した硬組織を共焦点レーザーラマン分光装置を用いて分析した結果、リン酸カルシウムの結晶（ hidroキシアパタイト）であることを確認した（図4）。



紫：Poly[Ser(P)]処理
青：Poly[Ser(P)]処理後、
第三リン酸カルシウム飽和溶液浸漬
赤：処理無し

図4 生成した硬組織のレーザーラマン分光分析

以上の結果より、ポリホスホセリンおよびホスホセリンとアスパラギン酸の共重合体はアパタイトに吸着し、カルシウムを誘導することで hidroキシアパタイトを生成すると考えられた。これは、既存するシーラント材料に変わる新しいシーラント材料としての可能性が期待できる。

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2件）

① Mina Yamaguchi, Shigeaki Kurata, Hiroyuki Yamamoto, Kousaku Ohkawa, Hisaaki Shinji : Study on Preventive and Restorative Treatment Applying Phosphoserine Polymer. The Bulletin of Kanagawa Dental College, 査読有, 36, 15-24, 2008

② 山口三菜、進士久明、木本茂成、倉田茂昭、大川浩作、山本浩之：新しい齲蝕予防法の検討. 小児歯科臨床, 査読無, 13巻10号, 76-80, 2008

〔学会発表〕（計6件）

(1) 国内学会発表

① 山口三菜、進士久明、井上吉登、倉田茂昭、大川浩作、山本浩之、大森弘子、木本茂成：ポリホスホセリンを用いた齲蝕予防法の検討（第3報）、第47回日本小児歯科学会大会、2009年5月14日、15日、大阪大学コンベンションセンター

② 山口三菜、進士久明、大川浩作、倉田茂昭、山本浩之、松原 聡、木本茂成：ポリホスホセリンを用いた新しい齲蝕予防法の検討. 第46回日本小児歯科学会大会、2008年6月12～13日、大宮ソニックシティ

③ 山口三菜、進士久明、小松太一、松原 聡、井上吉登、杉村和昭、木本茂成、倉田茂昭、山本浩之、大川浩作：ポリホスホセリンを用いた新しい齲蝕予防法の検討. 第45回日本小児歯科学会、2007年7月19日～20日 タワーホール船堀（東京）

④ 山口三菜、進士久明、小松太一、木本茂成、倉田茂昭：ポリホスホセリンを用いた結晶成長の検討. 第42回神奈川歯学総会、2007年12月8日、横須賀

(2) 国際学会発表

① Kousaku Ohkawa, Mina Yamaguchi, Hiroyuki Yamamoto, Shigeaki Kurata, Shigenari Kimoto, Hisaaki Shinji : Crystal Growth of Hydroxyapatite on Electrospun Composite Fine Fibers Containing Synthetic Phosphorylated Polypeptides, Cellulose and Gelatin. Bioceramics 22: 22nd International Symposium on Ceramics in Medicine, p. 193-196, October 26-29, 2009, Daegu, Korea

② Kousaku Ohkawa, Mina Yamaguchi, Hiroyuki Yamamoto, Shigeaki Kurata, Shigenari Kimoto, Hisaaki Shinji : Preparation and Dental Application of Composite Nanofibers from Gelatin and Synthetic Phosphorylated Polypeptides. Proceedings of The 4th International Symposium on Apatites and Correlative Biomaterials, p. 110-114, September 10-13, 2008, Manila, Philippines

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山口 三菜 (YAMAGUCHI MINA)
神奈川歯科大学・小児歯科学・助教
研究者番号：10386849