

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 15 日現在

機関番号：32667

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22791818

研究課題名（和文） 放射線照射による歯根形成への影響の解明と歯根再生に向けた治療法の開発

研究課題名（英文） The irradiation on tooth root formation and development of treatments for tooth root regeneration

研究代表者

井出吉昭（IDE YOSHI AKI）

日本歯科大学・生命歯学部・講師

研究者番号：70409225

研究成果の概要（和文）：本研究は、放射線が歯根形成障害を引き起こすメカニズムを解明するため、マウス頭部に放射線を照射し、放射線被曝による歯根形成への影響を検討した。本検討により、以下のことが明らかになった。①10Gy 照射により生後 15 日齢（P15）から、20Gy 照射により P11 から根尖部の組織学的形態異常がみられた。②照射群（20Gy）においてヘルトヴィッヒ上皮鞘細胞の動態に異常がみられた。③照射量が増えるにつれ根尖付近の歯髄内の増殖細胞の数が少なくなる傾向が見られた。④根尖付近の歯髄細胞において照射による TUNEL 陽性細胞の顕著な増加は見られなかった。本結果よりマウス頭部照射が歯根形成に及ぼす影響が明らかとなった。現在、放射線が歯根形成障害を引き起こすメカニズムの解明とその治療法の開発を行うため、さらなる検討を行っている。

研究成果の概要（英文）：To elucidate the mechanisms by which radiation can impair tooth root formation, we irradiated the heads of mice and investigated the influence of radiation exposure on tooth root formation. The following results were obtained. <1> With irradiation at 10 Gy and 20 Gy, histomorphological abnormalities of the apical area were observed starting on postnatal day 15 (P15) and P11, respectively. <2> The irradiated group (20 Gy) showed abnormal kinetics of Hertwig's epithelial root sheath cells. <3> As the radiation dose increased, the number of proliferating cells in the pulp near the root apex tended to decrease. <4> In pulp cells near the root apex, no marked increase in TUNEL-positive cells due to irradiation was seen. These results demonstrate that radiation of the head affects tooth root formation. To elucidate the mechanism by which irradiation causes impaired tooth root formation and to develop treatment, further investigation is currently underway.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2011 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：病態科学系歯学・歯科放射線学

キーワード：放射線治療、歯根形成、小児白血病、ヘルトヴィッヒ上皮鞘

### 1. 研究開始当初の背景

小児白血病患者の造血幹細胞移植の前処置として、抗腫瘍薬の投与や放射線治療が行われるが、これにより副次的に歯胚の欠如や歯根の短縮が生じると報告されている。そのため、放射線が歯の発生に影響を与えることが考えられるが、その詳細は不明である。

### 2. 研究の目的

本研究は、歯根形成の分子機構が未解明である現状をふまえ、放射線照射が歯根形成に及ぼす影響について検討する。分子レベルでの歯根の形成阻害のメカニズムを明らかにすることで、放射線治療より起こる歯根形成阻害の予防や、歯根吸収再生療法の開発への礎となると考える。

### 3. 研究の方法

本研究は、放射線照射による歯根形成障害のメカニズムを解析するため、マウス第1臼歯(M1)を観察対象とし、歯冠完成・歯根形成開始期であるマウス生後5日齢(P5)にエクソ線照射装置によりマウス頭部照射を行った。

照射線量と観察期間を設定するための予備実験のため、非照射群(0Gy)、照射群(10、20Gy)を設定し、P5、7、9、11、13、15における歯・歯周組織の解析を行った。

解析方法を以下に示す。

#### (1) マイクロCT撮影

放射線照射による歯根形成への影響を調べるため、3次元的な経時的形態変化の観察と歯根長計測により行った。



#### (2) HE染色

歯と周囲組織の観察を行い放射線照射による歯根形成への影響を解析。

#### (3) Cytokeratinの免疫染色

上皮細胞のマーカーとして使用し、ヘルトヴィッヒ上皮鞘の細胞の動態を観察。

#### (4) Nestinの免疫染色

象牙芽細胞マーカーとして使用し、細胞の動態を観察

#### (5) BrdU取り込み実験

根尖周囲の増殖細胞を観察

#### (6) TUNEL染色

根尖周囲のアポトーシス細胞を観察

### 4. 研究成果

#### (1) マイクロCT撮影

照射線量の違いにより歯根の形成障害に違いが見られることを確認した。

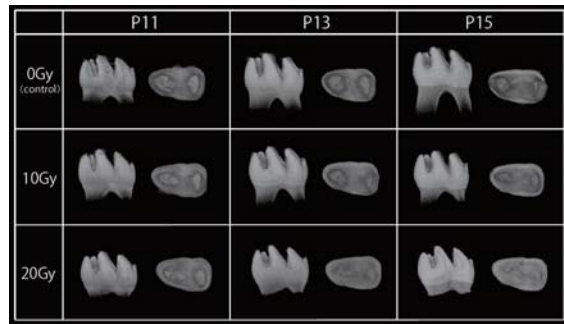


図2 3次元的な歯根形態変化の観察

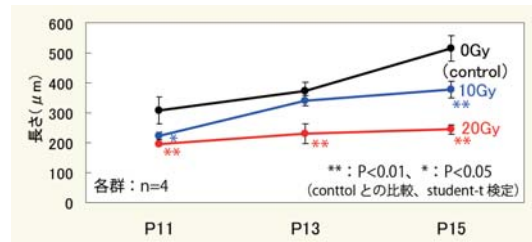


図3 第一臼歯遠心根の歯根長

#### (2) HE染色

10Gy照射によりP15から、20GyによりP11から根尖部の形態異常がみられた。

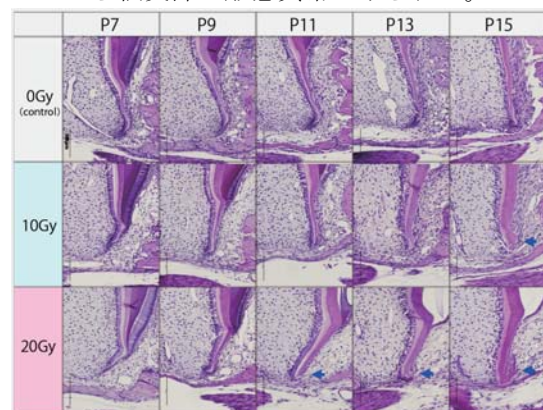


図4 HE染色によるM1の遠心根遠心側像の観察

#### (3) Cytokeratinの免疫染色

照射群(20Gy)においてHERS細胞の動態に異常がみられた。

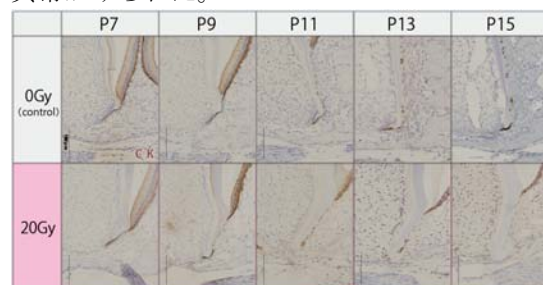


図5 Cytokeratin免疫染色によるHERSの観察

#### (4) Nestinの免疫染色

0Gy群、20Gy群共にP7からP15において、象牙芽細胞はnestin陽性であった。20Gy群では、根尖部の形成異常の部位でnestin陽性細胞がみられた。正常組織(P28)におけるセメント質の部位では、nestin陽性細胞

が存在しないことから、根尖部の石灰化組織は象牙質形成異常によるものと考えられた。

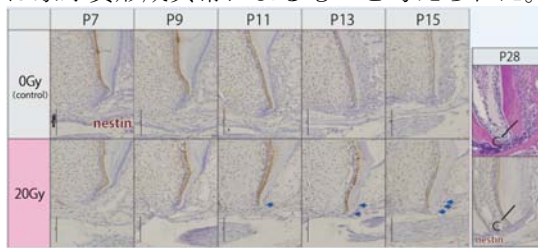


図6 Nestin 免疫染色による象牙芽細胞の観察

(5) BrdU 腹腔内投与後の BrdU 免疫染色

照射量が増えるにつれ歯髄内の増殖細胞の数が少なくなる傾向が見られた。

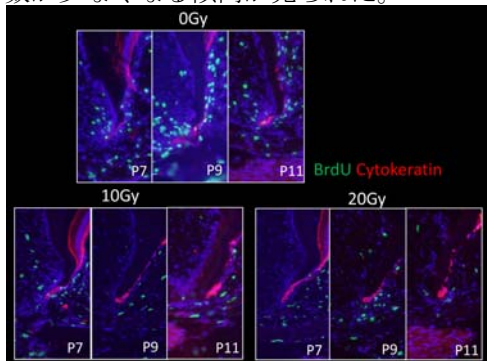


図7 BrdU 腹腔内投与後の BrdU の免疫染色

(6) TUNEL 染色

根尖付近の歯髄細胞において照射による TUNEL 陽性細胞の顕著な増加は見られなかった。

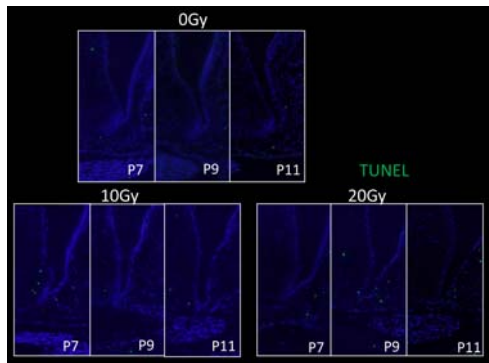


図8 TUNEL 染色

## 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 5 件)

- ① Sato H, Ide Y, Nasu M, Numabe Y: The effects of oral xylitol administration on bone density in rat femur., *Odontology.*, 査読有, 99: 28-33, 2011
- ② 井出吉昭: 口のふしぎと歯のふしぎ 歯科疾患が原因で鼻づまりが起こるって本当ですか?, *DHstyle*, 査読無, 5 巻 7 号

14-16, 2011

- ③ Suzuki M, Tominaga N, Ide Y, Ohyama A, Nakahara T, Ishikawa H, Tanaka A, Mataga I: Establishment and characterization of the rhabdomyosarcoma cell line designated NUTOS derived from the human tongue sarcoma: Special reference to the susceptibility of anti-cancer drugs., *Hum Cell.*, 査読有, 23: 65-73, 2010
- ④ 山田麻衣子, 井出吉昭, 高森等, 代居敬: 上顎骨犬歯部領域のCTによる骨形態の検討., *日本口腔インプラント学会誌*, 査読有, 23: 239-247, 2010
- ⑤ Nakahara T, Tamaki Y, Tominaga N, Ide Y, Nasu M, Ohyama A, Sato S, Ishiwata I, Ishikawa H. Novel amelanotic and melanotic cell lines NM78-AM and NM78-MM derived from a human oral malignant melanoma. *Hum Cell.*, 査読有, 23:15-25, 2010

[学会発表] (計 9 件)

- ① 井出吉昭, 中原貴, 那須優則, 富永徳子, 田巻友一, 石川博: マウス頭部エックス線照射モデルによる歯根形成障害の解析 歯科基礎医学会, 岐阜, 2011年9-10月
- ② 那須優則, 中原貴, 井出吉昭, 富永徳子, 田巻友一, 石川博: ヒト歯肉由来血管内皮細胞の分離と同定, 歯科基礎医学会, 岐阜, 2011年9-10月
- ③ 鎌田弘明, 高見沢聡一, 井出吉昭, 富永徳子, 中原 貴: マウス下顎臼歯歯根形成期におけるヘルトヴィッヒ上皮鞘とその周囲組織の細胞動態の観察, 日本解剖学会, 横浜, 2011年3月
- ④ 中原 貴, 井出吉昭, 富永徳子, 石川博: 再生歯インプラントの実現に向けた歯根・歯周組織ユニットのインビトロ形成と移植評価, 日本口腔外科学会, 幕張, 2010年10月
- ⑤ 鎌田弘明, 井出吉昭, 富永徳子, 中原貴: マウス臼歯歯根形成期におけるヘルトヴィッヒ上皮鞘とその周囲組織の細胞動態の観察, 歯科基礎医学会, 船堀, 2010年9月
- ⑥ 那須優則, 中原 貴, 井出吉昭, 富永徳子, 石川 博: ミニブタ胎児の歯胚由来血管内皮細胞株の血管形成に関する研究, 歯科基礎医学会, 船堀, 2010年9月
- ⑦ 井出吉昭, 中原 貴: エックス線CTによる3次元解析の可能性 - 解析装置として研究に応用できること -, 日本歯科大学歯学会研究推進フォーラム, 東京, 2010年9月
- ⑧ 富永徳子, 井出吉昭, 安田 允, 鈴木見

奈子, 石渡 勇, 那須優則, 石川 博,  
中原 貴: ヒト卵巣のGerm cell tumor  
由来HGCT細胞株の樹立とIL-1 $\beta$ 、IL-6、  
VEGFの産生, 日本ヒト細胞学会, 筑波、  
2010年8月

- ⑨ 井出吉昭, 田巻友一, 富永徳子, 石渡  
勇, 川上未有希, 大山晃弘, 石川 博,  
中原 貴: ヒト子宮由来 gestational  
choriocarcinoma cell line株 (NUCC) の  
樹立とその特徴, 日本ヒト細胞学会, 筑  
波、2010年8月

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

井出吉昭 (IDE YOSHIAKI)

日本歯科大学・生命歯学部・講師

研究者番号: 70409225

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号:

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号: