

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 7 月 19 日現在

機関番号：32703

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23390437

研究課題名(和文)セメント質誘導を応用した新規歯内療法の確立と臨床応用

研究課題名(英文)The basic study of new endodontic therapy induced with cementum

研究代表者

石井 信之 (ISHII, Nobuyuki)

神奈川県立歯科大学・歯学研究科(研究院)・教授

研究者番号：20163610

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円、(間接経費) 4,050,000円

研究成果の概要(和文)：歯内治療において根管充填後の理想的な治癒形態は根尖部硬組織における被覆である。本研究は生体親和性とセメント芽細胞分化誘導能を有する新しい根管充填材を開発し、根尖最狭窄部にセメント質被覆による理想的根尖封鎖を誘導する歯内療法を確立し臨床応用することを目的として行った結果、根尖孔をその周囲の歯周組織細胞により形成された硬組織にて封鎖する為に、細胞の分化誘導のみならず細菌感染からの保護の為にMTAやS-PRG含有の様々な修復材料は、今後、成長因子等を組み合わせて新規歯内治療薬を開発するための有用な材料である事が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The ideal healing of an endodontic treatment is a mineralized tissue formation on apical foramen. This study aimed at developing the new endodontic treatment which can heal by using Mineral Trioxide Aggregate(MTA) and S-PRG filler by controlling hard tissue formation of the cell which present in the periapical tissue. We used the cells that a human cementblast (HCEM), a human pulp chamber cell (HPulp) and a human periodontal ligament cell (HPLC). The co-culture with MTA and cement containing S-PRG filler. We investigated the expression of genes involved in mineralized tissue formation (Bone Sialoprotein ; BSP, Osteocalcin ; OCN), and mineralization (Alkaline phosphatase ; ALP). It was shown that BSP, OCN and ALP revelation become the maximum in 24 hours and as for all the cells, the potential of mineralized tissue (bone or cementum) was observed. MTA and S-PRG filler promoting the differentiation induction of HCEM, HPulp, and HPLC participating in the mineralized tissue formation.

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：歯学 再生医学

1. 研究開始当初の背景

根管充填後の理想的な治癒形態は根尖部のセメント質被覆であり、このためには根尖最狭窄部での適切な根管充填を必要とする。しかしながら、根管無菌性獲得の困難さや不完全根管充填によって、根尖性歯周炎が発症し感染根管治療に移行することが多い。抜髄治療時の偶発的なアンダー根管充填は**根尖部セメント質封鎖を誘導**し、適切な根管充填(根管最狭窄部での根管充填)と同等の予後成績良好を示し(日誌保誌,28, 1034-1043, 歯内療法雑誌,6, 15-28)、さらに、Sjogren(1990)は側方加圧根管充填の予後成績を報告し、抜髄症例と感染根管症例の成績良好率を比較すると抜髄症例が96%に対して感染根管症例は79%を示し、抜髄根管では側方加圧根管充填でも十分な予後成績が得られるが、感染根管では根管充填方法および充填手技によって予後成績が大きく左右されることが明らかにされている。**抜髄治療後の根尖性歯周炎の発症を防止し、感染根管治療を減少させることは、歯内療法の成功率を向上させることが明らかである。**

2. 研究の目的

本研究は根尖孔にセメント芽細胞を誘導し、セメント質被覆による意図的根尖部封鎖を目的とした新規歯内療法の確立を目的とした。根尖部のセメント質封鎖誘導には、生体親和性とセメント芽細胞遊走亢進およびセメント質分化誘導能を有する成長因子、基剤を利用し、根尖最狭窄部を意図的に封鎖後、セメント質被覆による根尖部封鎖を確立させる。根尖孔を迅速に確実にセメント質封鎖することにより、抜髄治療後の根尖性歯周炎の発症を防止し、感染根管治療を減少させることができる。さらに、アピカル・ストップが得られない歯内療法難症例(歯根未完成歯、歯根吸収歯および根尖部穿孔歯)に対して緊密な根管充填が可能になり治療成績の向上に

つながる。

そこで、本研究は生体親和性とセメント芽細胞分化誘導能を有する新しい根管充填材を開発し、根尖最狭窄部にセメント芽細胞を誘導しセメント質被覆による理想的根尖封鎖を誘導する歯内療法を確立し臨床応用することを目的とした。

3. 研究の方法

ヒトセメント芽細胞、ヒト歯根膜細胞、ヒト歯髄細胞の分化誘導材(剤)の選択と開発

セメント芽細胞分化誘導材(剤)の選択には象牙質形成促進およびセメント質形成が確認され、すでに臨床使用されている Mineral Trioxide Aggregate (MTA)セメントを主成分として、成長因子(Bone Morphogenetic Protein-7: BMP-7)と基剤(PBS)を組み合わせることで実験を行うことを目標とし、さらに近年開発された MTA セメントと同様に硬組織を誘導する(J Dent 39,72-79, 2011)という類似した特性を持つ Surface reaction type pre-reacted glass-ionomer filler (S-PRG)含有セメント(株式会社松風)を用いた。MTAセメントはセメント芽細胞(J Endod. 32:210-3, 2006)、象牙芽細胞(Int Endo J. 38,203-10, 2005)、および骨芽細胞(J Endod. 33:836-9, 2007)に対して石灰化促進作用を有することが確認されている。セメント芽細胞分化誘導材(剤)となる、MTAセメント、S-PRG含有セメントのセメント芽細胞分化誘導能を比較すると同時に、その分化誘導が起こる可能性のある細胞として、根尖歯周組織にセメント芽細胞のほか歯根膜細胞および歯髄細胞が存在することも着目し、ヒトセメント芽細胞(HCEM)、ヒト歯髄培養細胞(hPulp)およびヒト歯根膜培養細胞(HPLC)(供試細胞は、広島大学大学院口腔顔面病理病態学 高田隆教授より譲受した。)に対して各セメントとの共培養することにより石灰化関連マーカー: bone sialoprotein (BSP), osteocalcin (OCN), アルカリフォスファタ

ーゼ(ALPase)の発現を培養 24、48、72、96 時間後に定量 RT-PCR 法(LightCycler480. Roche)を用いて行った。さらに、根管充填時に根尖孔から根管充填用シーラーが溢出したことを想定し、新規非ユージノール性根管充填用シーラー(ニシカキャナルシーラーN (CS-N); 日本歯科薬品株式会社)に対するセメント芽細胞親和性を細胞増殖活性曲線による細胞生存率の測定により解析した。

4. 研究成果

MTA による BSP 発現は、S-PRG 含有セメントも同様にいずれの細胞に対しても骨またはセメント質の形成能力が確認された。OCN 発現は 24 時間より発現が認められた。免疫細胞の動態も 4 8 時間で一度減少する二層性形態をみる。本来歯髄組織では、一旦炎症反応が起きると回復するのか壊死するのかに応じて歯髄細胞に対するシグナルが変化することから、24、48 時間においては、過剰な発現が認められたと考えられる。ALP 発現より MTA も S-PRG 含有セメントにおいても安定した硬組織形成が認められることが確認された。HCEM および HPLC のそれぞれの遺伝子発現について、発現時間に差があり、それらは、分化するものが決まっている細胞と分化誘導するための時間が必要な細胞との違いが存在し、それらは、免疫学的応答に対する時間差とも考えられた。

新規根管充填用シーラー(CS-N)と HCEM の共培養における細胞増殖活性は、24 時間、48 時間までは HCEM の細胞増殖曲線と変化は見られなかったが、増殖が活性化される 72 時間において若干の増殖傾向の減退は認められたが、増殖自体が停止しているわけではなく、結果として生体親和性は確認することができた。

結論として、根尖孔をその周囲の歯周組織細胞により形成された硬組織にて封鎖する為には、その感染範囲に影響を受けるものではあるが、歯髄細胞に置いては、歯髄腔内に残

存している歯髄細胞の中の歯髄幹細胞の分化誘導に依存して硬組織の形成が促される事から、効率的な封鎖を行う上で、細胞の分化誘導のみならず機械的な封鎖による細菌感染からの組織保護の為に MTA および S-PRG 含有セメントは、既存のものとしての有用な材料である事が示唆された。今後、これらのセメントに、成長因子(Bone Morphogenetic Protein-7: BMP-7)と基剤(PBS)を組み合わせる新規歯内治療薬を開発する研究を継続する予定である。

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 0 件)

[学会発表](計 2 件)

武藤徳子、石井信之 Mineral trioxide aggregate の根尖部硬組織誘導過程に及ぼす影響に関する研究 日本歯科保存学会 2014 年度春季学術大会(第 140 回) 2014.6.19-20 滋賀 びわ湖ホール
武藤徳子、石井信之 セメント質誘導を応用した新規歯内治療の基礎的研究 第 35 回日本歯内療法学会学術大会 2014.7.12-13 新潟 朱鷺メッセ

[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

石井信之 (ISHII, Nobuyuki)
神奈川県立大学・大学院歯学研究科 (研究
院)・教授
研究者番号：20163610

(2)研究分担者

高垣裕子 (TAKAGAKI, Yuko)
神奈川県立大学・大学院歯学研究科 (研究
院)・教授
研究者番号：60050689

(3)研究分担者

渡辺清子 (WATANABE, Kiyoko)
神奈川県立大学・大学院歯学研究科 (研究
院)・講師
研究者番号：70148021

(4)研究分担者

武藤徳子 (MUTOH, Noriko)
神奈川県立大学・大学院歯学研究科 (研究
院)・講師
研究者番号：40510433

(5)連携研究者

()

研究者番号：