

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 6 月 11 日現在

機関番号：32689

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2013～2014

課題番号：25882035

研究課題名(和文) 歯科用修復材料開発のための金属曝露による細胞ストレス応答

研究課題名(英文) Cell stress response by the metal exposure for dental repair materials development

研究代表者

軽部 裕代 (Karube, Hiroyo)

早稲田大学・理工学術院・助教

研究者番号：70318913

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：「歯の健康」は、ヒトの「健康」を維持するために重要な器官であるとされ、歯科用修復材料の開発は、歯科医療における治療技術を向上させる上で重要な役割がある。そこで本研究では、歯科用修復材料として今後利用が見込まれている「歯科用金属」に着目し、歯の細胞に金属を曝露することにより細胞における安全性を評価し、歯科用修復材料の新素材の開発への貢献と、臨床応用に向けた安全性評価について検討した。

研究成果の概要(英文)：It is said "dental health" is an important part of the body to maintain its "health" of the human. As for the development of dental repair materials, it has an essential role in improving treatment in the field of dentistry. Therefore, we paid close attention to the "dental metal" in this study. The use of these "dental metals" are anticipated as the prospective dental repair materials in the future. We have evaluated the safety in cells by exposing metal to the cells of teeth then examined safety assessment for the contribution and the clinical application to the development of the new material of dental repair materials.

研究分野：歯科

キーワード：歯科用修復材料 金属曝露 細胞ストレス応答

### 1. 研究開始当初の背景

「歯の健康」は、ヒトの「健康」を維持するために重要な器官であるとされ、歯科用修復材料の開発は、歯科医療における治療技術を向上させる上で重要な役割がある。近年「健康」は、次世代の基幹産業として成長が見込まれている分野であり、その中でも医薬品・医療機器の開発は、イノベーション産業を起すために重要であると言われている。特に歯科医療における治療材料の開発は、分子生物学的研究の急速な進歩により病態が明らかになり始め、今後は、これらの成果を応用した、安全で有効性のある新しい製品の開発が必要となっている。最近では、医療において「レギュラトリーサイエンス」という分野が注目されている。レギュラトリーサイエンスは、ライフサイエンス分野において、医薬品・医療機器産業の開発における人体への適正かつ安全な使用のために、その基準値や安全性等の評価のあり方について見直し、科学的知見に基づいて適正に技術評価を行うことにより、世界に先駆けた革新的な医薬品・医療機器・再生医療等製品の実用化を実現し、ひいては、世界全体の医療の向上に寄与するためには必要不可欠であるとされている。歯科医療においても、今後、新しい医療機器を開発する上でレギュラトリーサイエンスの考え方の導入が必要である。そこで本研究では、歯科医療における歯科医療機器を中心とした、レギュラトリーサイエンスにおける健康影響評価について検討する。

### 2. 研究の目的

新しい医薬品・医療機器の開発は、健康長寿社会の構築に貢献出来るとして注目され、新しい医療技術の創出とともに日本の経済成長の戦略産業となっている。歯科医療においては、「歯の健康」はヒトの「健康」を維持するために重要な器官であるとされることから、その役割は重要であり、日本歯科医師会は、平成 24 年に「新歯科医療機器・歯科医療技術産業ビジョン」(<http://www.jads.jp>)を策定し、その中に、新しい歯科材料の開発における「新素材」の開発が望まれている。そこで本研究では、歯科用修復材料として、今後利用が見込まれる「歯科用金属」に着目し、歯の細胞に金属を曝露することにより、細胞における安全性を評価し、歯科用修復材料の新素材の開発への貢献と、臨床応用に向けた安全性評価について検討することを目的とする。また、医療機器の開発は、日本における経済成長の柱とすることが望まれており、医科における医療機器のみならず歯科医療機器も、経済成長分野として期待されている。そこで、現時点における歯科医療機器産業の動向と、経済成長の方向性について分析することにより、歯科医療分野における今後の経済成長のあり方について検討した。

### 3. 研究の方法

(1) 歯科医療における歯科材料の市場分析  
平成 15 年から平成 24 年に実施された、厚生労働省の「薬事工業生産動態統計調査」を用いて、歯科医療機器の市場の動向について分析した。歯科医療機器は、歯科材料と歯科機器に分類されるため、各年度の歯科医療機器の生産金額・輸出金額・輸入金額より国内市場規模や国内または海外企業の占有率と国際競争力等を算出し、過去 10 年間の歯科医療産業の現状と、産業界における歯科医療機器のニーズや国際競争力強化に必要とされる要因について社会的に分析した。歯科材料と歯科機器における市場分析は、ポストン・コンサルティング・グループが開発した「プロダクトポートフォリオ・マネージメント分析 (PPM 分析)」を用いて検討し、将来における歯科医療産業ビジョンの課題について考察した。

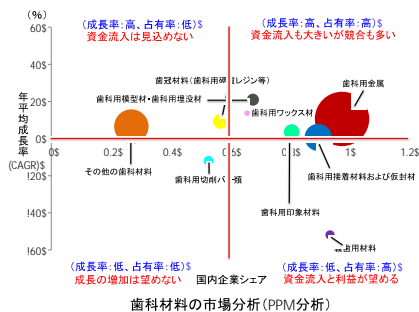
#### (2) 歯科材料の安全性評価について

歯科領域において「金属」は生体材料の一つであり、う蝕の修復や歯磨剤への添加等、多くの歯科材料に使用されている。特に「バナジウム」は糖尿病や高血圧症等、生活習慣病を予防するとして注目され、バナジウム含有ミネラルウォーターも販売されていることから、一般社会においても関心は高い。バナジウムは骨に対して生体親和性を有することから、整形外科領域ではインプラントの材料としても使用されている。また、バナジウムは、自然界に普遍的に存在し、食物や飲料水に含まれており、その性質は、う蝕予防に用いられている「フッ素」とほぼ同様の性質を有している。そこで今回は「バナジン酸ナトリウム」の細胞毒性について検討し、毒性発現の分子機構について明らかにすることにより、歯の細胞に対するバナジン酸ナトリウムの安全性評価について検討した。

### 4. 研究成果

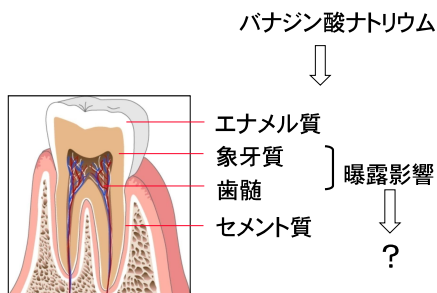
(1) 歯科医療における歯科材料の市場分析  
歯科医療機器の国内市場規模は年々増加傾向にあり、歯科医療機器全体の国内生産は伸びている。しかし、必ずしも毎年、同じ比率で伸びている訳ではなく、各年度により増加率は異なっていた。歯科材料と歯科機器のそれぞれの国内市場の推移について調べたところ、歯科材料は、平成 24 年では平成 15 年と比較して、約 1.3 倍増加していた。歯科機器も同様の傾向があり、平成 21 年以降は、国内市場は増加している。また、歯科材料と歯科機器における国内企業と海外企業の市場占有率は、歯科材料においては約 8 割、歯科機器は約 7 割が国内企業であった。また、歯科材料と歯科機器を用途別に分類し、PPM 分析により市場での競争力マップを作成したところ、歯科材料においては歯科用金属が成長率・占有率とも高く、主に歯冠修復に用いられる金属材料は、資金流入も大きい

競合も多いことが明らかとなり、今後、歯科用金属は、歯科医療の分野で、経済成長が見込まれる傾向にあることが推察された。



## (2) 歯科材料の安全性評価について 曝露物質と細胞の選定

今回使用する物質は「バナジウム」とした。近年歯科領域において「バナジウム」に着目した研究は行われておらず、新規性を有していると言える。バナジウムは、錯体を形成することから数種類の化合物が存在するが、バナジウムの毒性は、価よりも価の方が毒性が高いことと、一般環境中でのバナジウムの主要な価数は 価であることを考慮して、価のバナジウム化合物の毒性を評価すべきと考えた。そこで今回は、「バナジン酸ナトリウム」を曝露することとした。バナジン酸ナトリウムは、さらに、メタバナジン酸ナトリウム ( $\text{NaVO}_3$ ) とオルトバナジン酸ナトリウム ( $\text{Na}_3\text{VO}_4$ ) があるが、水への可溶性等を考慮して、メタバナジン酸ナトリウムの細胞応答について検討することとした。また、今回は、歯科用修復材料の新素材の開発を目的としているので、細胞は、歯科材料が直接接する部分の細胞を選定することが適切である。そこで、歯科用修復材料が直接作用し、象牙質・歯髄複合体に属する、マウス歯乳頭由来の象牙芽細胞様細胞株である MDPC-23 細胞を用いることとした。



### バナジン酸ナトリウムの細胞毒性

MDPC-23 細胞にバナジン酸ナトリウムを曝露後、細胞生存率を WST-8 アッセイにより測定した。バナジン酸ナトリウムの濃度を  $10 \mu\text{M} \sim 2\text{mM}$ 、曝露時間を 2~24 時間として測定したが、曝露濃度と曝露時間によって、細胞生存率は低下する傾向が見られず、再現性もみられなかった。これは、技術的な問題よりも、アッセイ試薬と曝露物質との相性が

あまりよくないことが考えられたが、予想されるデータを得ることは出来なかった。他の細胞により同様の条件で試みたところ、細胞生存率は、曝露濃度と曝露時間によって低下する傾向はみられなかった。今後、アッセイ系をトリパンブルー等に変更することにより、再度測定を試みる予定である。

### バナジン酸ナトリウム曝露による細胞応答

MDPC-23 細胞に、血清非存在下でバナジン酸ナトリウムを曝露し、代表的なシグナル伝達系の 1 つである MAP キナーゼ (mitogen-activated protein kinase) 系ファミリーに属する、ERK (extracellular signal-regulated kinase), p38, JNK (c-Jun NH<sub>2</sub>-terminal kinase) が活性化するかどうかについて、抗リン酸化型 MAP キナーゼ系認識抗体を用いて、ウエスタンブロット法により測定した。  $10 \mu\text{M} \sim 2\text{mM}$  濃度のバナジン酸ナトリウムを 4~24 時間曝露したところ ERK と JNK のリン酸化は、8 時間曝露で  $20 \mu\text{M}$  より発現がみられた。また p38 のリン酸化は、8 時間曝露で  $100 \mu\text{M}$  より発現が見られた。よって、バナジン酸ナトリウム曝露により、MAP キナーゼ系ファミリーに属するそれぞれのリン酸化は、活性化することがわかった。また、細胞の特異性について調べるため、オルトバナジン酸ナトリウムにより同様の実験を行ったところ、メタバナジン酸ナトリウム曝露時とほぼ同様の結果であった。今後は、曝露濃度と曝露時間を一定にすることにより、MAP キナーゼ系ファミリーの発現を、より詳しく解析する予定である。

### <参考文献>

Ana M. Cortizo, M Silvana Molinuevo, Daniel A. Barrio, Liliana Bruzzone, Osteogenic activity of vanadyl ( ) -ascorbate complex: Evaluation of its mechanism of action, The International Journal of Biochemistry & Cell Biology 38: 1171-1180, 2006.

Katsura Suzuki, Kiyoshi Inageda, Gen Nishitai, Masato Matsuoka, Phosphorylation of p53 at serine 15 in A549 pulmonary epithelial cells exposed to vanadate: Involvement of ATM pathway, Toxicology and Applied Pharmacology 220: 83-91, 2007.

H.Karube, G.Nishitai, K.Inageda, H.Kurosu, and M.Matsuoka, NaF Activates MAPKs and Induces Apoptosis in Odontoblast-like Cells, Journal of Dental Research 88(5): 461-465, 2009.

5. 主な発表論文等  
〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

軽部 裕代, 歯科医療機器産業の経済成長の方向性について, 第 55 回日本歯科医療管理学会, 平成 26 年 7 月 18 日~20 日, 札幌

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕  
なし

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

軽部 裕代 (KARUBE, Hiroyo)  
早稲田大学・理工学術院・助教  
研究者番号: 70318913