

平成21年 3月16日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18791393
 研究課題名（和文） 歯髄炎と根尖性歯周炎の治癒に樹状細胞の機能を応用する分子生物学的研究
 研究課題名（英文） Molecular Biological Analysis for the function of Dendritic Cells in Dental Pulps and Periapical Lesions
 研究代表者
 金子 友厚（KANEKO TOMOATSU）
 東京医科歯科大学・歯学部附属病院・医員
 研究者番号：70345297

研究成果の概要：ヒトおよびラット根尖性歯周炎における免疫担当細胞の機能の詳細を明らかにするため、透過型・走査型電子顕微鏡を用いた免疫組織化学的研究を行い、世界に先駆けて根尖性歯周炎および歯根膜内の樹状細胞を同定した。さらに分子生物学的検索も加え、樹状細胞は、活性/成熟度・表面発現抗原・形態学的な相違により複数の亜群に分類され、歯根膜の各部位や根尖性歯周炎の成立過程において特徴的な分布を示し、機能的に重要な役割を有することを解明した。

主たる研究成果

1. 日本歯科保存学会デンツプライ賞, 2007. (受賞演題: 歯髄組織の再生に関する研究)
2. 2008年, 論文が, *Journal of Endodontics* の表紙にハイライトとして掲載された.
3. 2008年, 論文が, *Journal of Dental Research* の表紙にハイライトとして掲載された.
4. 2007年, 論文が, *Cancer Research* の表紙にハイライトとして掲載された.

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1,400,000	0	1,400,000
2007年度	1,000,000	0	1,000,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	300,000	3,700,000

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：歯内療法, 根尖性歯周炎, 樹状細胞, マクロファージ

1. 研究開始当初の背景
 歯髄および根尖性歯周組織の外来侵襲に

対する防御能は、極めて低いものと考えられており、一端歯髄が感染すると歯髄

炎となり、根尖性歯周炎に至る。これらの一連の疾患は、歯牙炎症性疾患のなかで最も頻度の高い疾患であり、歯髄を保存して、あるいは歯を抜去することなく保存的に治療できるかどうかの境界にあたる疾患である。申請者は、これまでヒトおよびラット根尖性歯周炎の抗原提示細胞に対して免疫電顕法を用い検索を行い、世界で初めて、根尖性歯周炎内に存在する樹状細胞を免疫電顕により同定し、樹状細胞の根尖性歯周炎の発生から成立までを経時的に検索した。そして、樹状細胞が細胞膜表面抗原の異なる数種の亜群に分類され、根尖性歯周炎の慢性化に関与している可能性を得るに至った。しかし、樹状細胞が炎症時に有する機能に関する詳細は依然として今後の課題として残った。

そこで申請者は、歯髄炎の惹起から根尖性歯周炎の慢性化までの各時期において、どのような樹状細胞が分布し、分化・成熟してゆくのか、またどの細胞とネットワークを有しているのかに対して検索を行い、病変内で展開される樹状細胞の免疫防御機構の実体を解明し、臨床的対応の概念に際して不可欠な学理的な基盤の確立を目指すことを本研究の背景とした。

2. 研究の目的

正常歯根膜から根尖性歯周炎までの抗原提示細胞の表面発現抗原および超微形態の検索樹状細胞を分子レベルで検索し、樹状細胞の機能を操作することにより、歯髄炎あるいは根尖性歯周炎を治癒させることを最終目的とする。

樹状細胞やマクロファージなどの免疫担当細胞の抗原提示に関与する遺伝子および細胞の生存死に関与する遺伝子の発現などを分子生物学的に検索する。そして組織修復が最もおこりやすい条件を検索する。

3. 研究の方法

ラットに実験的に根尖病変を起こし、摘出した組織を、樹状細胞を認識する抗体を用い免疫染色を行う。その抗体により染色された抗原特異的な細胞と陰性の組織とを、それぞれレーザーマイクロディセクションにより摘出、RNAを採取し、マイクロアレイ、real-time PCR、RT PCRを用い抗原提示に関する遺伝子の発現および細胞の生存・死に関与する遺伝子の発現を検索する。

4. 研究成果

ヒトおよびラット根尖性歯周炎における免疫担当細胞の機能の詳細を明らかにするため、透過型・走査型電子顕微鏡を用いた免疫組織化学的研究を行い、世界に先駆けて根尖性歯周炎および歯根膜内の樹状細胞を同定した。さらに分子生物学的検索も加え、樹状細胞は、活性/成熟度・表面発現抗原・形態学的な相違により複数の亜群に分類され、歯根膜の各部位や根尖性歯周炎の成立過程において特徴的な分布を示すことを解明した。

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9件)

1. Up-regulation of Antigen Presenting Cell-Related Molecules and Toll-like Receptors mRNAs at the Early Phase of Experimentally-induced Furcal Inflammation in the Rat Molar. Kaneko T, Okiji T, Sunakawa M, Kaneko M, Chokechanachaisakul U, Kawamura J, Suda H. Japanese Journal of Conservative Dentistry, (印刷中) (Japanese)
2. Dental Pulp Tissue Engineering with Stem Cells from Exfoliated Deciduous.

- Cordeiro M, Dong Z, **Kaneko T**, Zhang Z, Miyazawa M, Shi S, Smith AJ, Nör JE. Journal of Endodontics, 34, 8, 962-969, 2008.
3. Antigen presenting cells in human radicular granulomas. **Kaneko T**, Okiji T, Kaneko R, Nör JE, Suda H. Journal of Dental Research, 87, 6, 553-557, 2008.
 4. Heterogeneity of dendritic cells in rat apical periodontitis. **Kaneko T**, Okiji T, Zhao L, Esgeurra R, Suda H. Cell and Tissue Research, 331, 3, 617-623, 2008.
 5. Characteristics of resident dendritic cells in various regions of rat periodontal ligament. **Kaneko T**, Okiji T, Kaneko R, Suda H. Cell and Tissue Research, 331, 2, 413-421, 2008.
 6. Heterogeneity of Antigen Presenting Cells in Different Regions of Normal Rat Periodontal Ligament: Quantitative PCR Analysis of CD83, CD86 and Toll-like Receptor 4 mRNAs. **Kaneko T**, Okiji T, Kaneko M, Suda H. Japanese Journal of Conservative Dentistry, 51(5); 502-507. (Japanese)
 7. Bcl-2 orchestrates a cross-talk between endothelial and tumor cells that promotes tumor growth. **Kaneko T**, Zhang Z, Mantellini MG, Karl E, Zeitlin B, Verhaegen M, Soengas MS, Lingen M, Strieter RM, Nunez G, Nör JE. Cancer Research, 67, 20, 9685-9693, 2007.
 8. Kinetic study of immunohistochemical colocalization of antigen-presenting cells and nerve fibers in rat periapical lesions. Yang G, Kawashima N, **Kaneko T**, Suzuki N, Okiji T, Suda H. Journal of Endodontics, 33, 2, 132-136, 2007.
 9. Immunoelectron microscopic analysis of CD11c-positive dendritic cells in the periapical region of the periodontal ligament of rat molars. Zhao L, **Kaneko T**, Okiji T, Takagi M, Suda H. Journal of Endodontics, 32, 12, 1164-1167, 2006.
- [学会発表] (計 10 件)
1. p38MAPK and GFAP are upregulated by MO tooth pulp stimulation. Sunakawa M, **Kaneko T**, Kaneko M, Suda H. International Association for Dental Research, general session, Canada, 2008.
 2. Electron Microscopic Characterization of dendritic cells in Apical Periodontitis. Kaneko T, Okiji T, Suda H. Microscopy & Microanalysis 2007, USA, 2007.
 3. Endothelial cells affect tumor progression and tumor cell gene expression. **Tomoatsu Kaneko**, Hideaki Suda, Jacques E. Nör. FDI World Dental Congress, Shenzhen, China, 2006.
 4. Immunoelectron microscopic analysis of CD11c-positive dendritic cells in the periapical region of the rat periodontal ligament. **Tomoatsu Kaneko**, Takashi Okiji, Hideaki Suda.. The Seventh Joint Meeting of the Japan Society of Histochemistry and Cytochemistry and the US Histochemical Society. Hawaii, United States, 2006.
 5. The effects of endothelial cells on tumor cell gene expressions. **Tomoatsu Kaneko**, Hideaki Suda, Jacques E. Nör.. 18th EORTC-NCI-AACR Symposium on "Molecular Targets and Cancer Therapeutics. Prague, 2006.
 6. Laser Capture Microdissection and RNA Analysis for Factor VIII-expressing endothelial cells in experimentally developed carcinoma. **Tomoatsu Kaneko**, Hideaki Suda,

- Jacques E. Nör. The 16th International Microscopy Congress. Sapporo, Japan, 2006.
7. Gene expression analyses of endothelial cells retrieved with laser capture microdissection in tumor angiogenesis. Tomoatsu Kaneko, Hideaki Suda, Jacques E. Nör. the 19th European Association for Cancer Research meeting. Budapest, 2006.
8. The effects of endothelial cells on tumor gene expression. Tomoatsu Kaneko, Maria G. Mantellini, Tatiana M. Botero, Elisabeta Karl, Jacques E. Nör. UMSD Research Table Clinic Day, Presented by The University of Michigan, School of Dentistry and ASDA. Michigan, United States, 2006.
9. 歯髄組織の再生に関する研究. 金子友厚, 須田英明. 日本歯科保存学会, 2007. 日本歯科保存学雑誌, 50 巻春季特別, 82, 2007.
10. 血管新生に血管内皮細胞が果たす役割について. 金子友厚, 須田英明, Jacques E.Nor. 日本歯科保存学会, 2006. 日本歯科保存学雑誌, 49 巻春季特別, 91, 2006.

[図書] (計 5 件)

1. 歯髄診断の進歩 –Reference the classic-金子友厚, 須田英明. ザ・クインテッセンス, vol.27 (188-193) , 2008.
2. 歯内治療におけるバイオフィルムの意義 –Reference the classic-金子友厚, 須田英明. ザ・クインテッセンス, vol.27 (186-197) , 2008.
3. 歯内治療を施した歯の垂直性歯根破折 –Reference the classic-金子友厚, 須田英明. ザ・クインテッセンス, vol.27 no.4, 202-207, 2008.
4. 歯髄組織の再生 –Reference the classic-金子友厚, 須田英明. ザ・クインテッセンス, vol.26 no.11, 200-204, 2007.

5. 歯髄組織再生へのアプローチ 金子友厚. 須田英明. 日本歯科評論, vol.67 no.10, 45-46, および, 表紙写真, 2007.

[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
なし.

6. 研究組織

(1) 研究代表者
金子友厚 (Tomoatsu Kaneko)

研究者番号 : 70345297

(2) 研究分担者 なし
()

研究者番号 :

(3) 連携研究者 なし
()

研究者番号 :