

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20592229

研究課題名(和文) 根面齲蝕の病態・病因の解析に基づく新しい診断法と治療法の開発

研究課題名(英文) Development of the diagnosis and treatment of root caries on its pathosis and pathogenesis

研究代表者

松尾 敬志(MATSUO TAKASHI)

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・教授

研究者番号：30173800

研究成果の概要(和文)：

歯科治療の進歩に伴い高齢者の残存歯数は増加したが、反面、歯根面の露出が高頻度に見られるようになり、根面齲蝕が問題となってきた。今回、根面齲蝕の病態を解析すると共にその新しい治療法を検索した。すなわち、根面齲蝕に関与する *S. mutans* の病原性を検討し、また、齲蝕象牙質再石灰化のための新しい歯質再石灰化法を検討した。さらに、初期歯髄炎における病態を解析すると共に、その治療法として抗炎症作用のあるカテキンの有用性を検討した。

研究成果の概要(英文)：

In elderly people in Japan, the number of remaining teeth increases, however, root caries have been developed because of the exposure of the surface of the roots to the oral cavity. Hence, we investigated the virulence factors of *S. mutans* considered to be the cause of root caries. Also we investigated the pathogenesis of the early phase of pulpitis and examined the anti-inflammatory effects of tea catechin as a sedative medicament of pulpitis.

交付決定額

(金額単位：円)

|        | 直接経費      | 間接経費      | 合計        |
|--------|-----------|-----------|-----------|
| 2008年度 | 2,000,000 | 600,000   | 2,600,000 |
| 2009年度 | 700,000   | 210,000   | 910,000   |
| 2010年度 | 800,000   | 240,000   | 1,040,000 |
|        |           |           |           |
| 総計     | 3,500,000 | 1,050,000 | 4,550,000 |

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：根面齲蝕、ミュータンス菌、再石灰化、歯髄炎、カテキン

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 高齢者によく見られる根面齲蝕は、痛みを伴うものは少ないものの、広範囲にかつ深く進行するケースが多く、歯根部根管に修復象牙質が形成された場合、根管治療が困難に

なることも多い。

(2) 根面齲蝕では、慢性齲蝕として齲蝕の進行が止まっている場合もよく観察される。このように根面齲蝕はエナメル質齲蝕に続発する象牙質齲蝕とは原因・病態が異なると

考えられ、その診断は現在でも困難である。

(3) 適切な治療を施すには正確な診断が必須であるが、根面齲蝕の正確な診断を下すにはその病態・病因の解明が必須である。そして、根面齲蝕の病態・病因の解明には、根部象牙質への細菌侵襲のメカニズムの解明のみならず、根部象牙質/歯髄複合体を場とする細菌侵襲に対する生態の防御システムの解明が必要である。

(4) 根面齲蝕は齲蝕除去後に修復窩洞を形成した場合、残存歯質が極端に少なくなり保存困難となるケースが多い。また、歯質の非薄化のため修復・保綴処置後に歯根破折するケースも多い。このため最小限の歯質削除で治療・修復できる方法が望まれる。

## 2. 研究の目的

根面齲蝕の正確な診断を下し、最小限の切削で治療・修復できる治療法を開発するため、以下の項目について検討する。

(1) 根面齲蝕の原因菌の病原因子とそのメカニズムを解析する。

(2) 齲蝕に侵された象牙質を削除せず、可及的に保存するための再石灰化法を開発する。

(3) 初期の歯髄炎の pathogenesis を明らかにすると共にその治療法を検討する。

## 3. 研究の方法

(1) *S. mutans* の糖代謝に関与する遺伝子および耐酸性機構に関与する遺伝子の齲蝕病原性への関与について検索するため、それぞれの遺伝子改変株を作成し、その付着能、グルカン合成能、グルコシルトランスフェラーゼの発現について親株と比較検討した。

(2) 歯質成分による象牙細管および象牙質の再石灰化法を検討するため、我々が開発したフッ化ジアンミンシリケートおよび新規材料アンモニウムヘキサフルオロシリケートの象牙質再石灰化能を、ヒト抜去歯の象牙質を用いてハイドロキシアパタイト析出の最適

な条件を検討した。

(3) 初期の歯髄炎で重要な役割を果たしていると考えられる自然免疫を検討するため、歯髄細胞の TLR2 と 4、NOD1 と 2 の発現を RT-PCR およびフローサイトメトリーで解析した。また、これらのレセプターを刺激した場合の炎症性サイトカインの産生および作用機序も検討した。さらに、消炎作用の期待される茶カテキンのこれら炎症反応に対する作用も検討した。

## 4. 研究成果

(1) *S. mutans* の糖代謝に関与する *scrA* 遺伝子および耐酸性機構に関与する *htrA* 遺伝子の改変株は付着因子の発現が低下しており、またグルカン合成量も低下していた。さらに、*htrA* 遺伝子改変株では、象牙細管への侵入率が有意に低下しており、これらの遺伝子が齲蝕病原性に強く関与していることが示された。

(2) ヒト抜去歯から作成した象牙質プレートにフッ化ジアンミンシリケートを作用させたところ、象牙細管を緊密に封鎖した。さらに、濃度依存的にカルシウム/リン比が上昇し、高濃度の場合、結晶中に占めるフッ化カルシウムの量が上昇することが明らかとなった。さらに新規材料のアンモニウムヘキサフルオロシリケートにおいても同様の結果が得られた。

(3) ヒト歯髄細胞には TLR2, NOD1 および NOD2 が発現しており、さらに NOD2 は歯髄組織切片において免疫組織学的にも検出された。ヒト歯髄培養細胞をこれらのリガンドおよび *S. mutans* で刺激すると、IL-8 や IL-6、MCP-1 などの炎症性サイトカインを産生した。これらの炎症性サイトカインの産生は歯髄細胞をカテキン処理することにより抑制され、カテキンが歯髄炎の治療薬として有用であることが示された。

## 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 6 件)

① Nakanishi T, Mukai K, Yumoto H, Hirao

- K, Hosokawa Y, Matsuo T. Anti-inflammatory effect of catechin on cultured human dental pulp cells affected by bacteria-derived factors. *Eur J Oral Sci*, 査読(有) 118, 145-150, 2010.
- ② Hirao K, Yumoto H, Nakanishi T, Mukai K, Takahashi K, Matsuo T. Tea catechins reduce inflammatory reactions via mitogen-activated protein kinase pathways in toll-like receptor 2 ligand-stimulated dental pulp cells. *Life Sciences*, 査読(有) 86, 654-660, 2010.
- ③ Suge T, Kawasaki A, Ishikawa K, Matsuo T. Effects of ammonium hexafluoro-silicate concentration on dentin tubule occlusion and composition of the precipitate. *Dent Mater*, 査読(有) 26, 29-34, 2010.
- ④ 菅 俊行, 柴田眞悟, 松尾敬志, フッ化ジアミンシリケートの象牙質知覚過敏症治療剤への応用-溶液濃度が象牙再刊封鎖能に及ぼす影響の検討-. *日歯保誌*, 査読(有) 52, 446-452, 2009.
- ⑤ Hirao K, Yumoto H, Takahashi K, Mukai K, Nakanishi T, Matsuo T. Roles of TLR2, TLR4, NOD2, and NOD1 in pulp fibroblasts. *J Dent Res*, 査読(有) 88, 762-767, 2009.
- ⑥ 菅 俊行, 松尾敬志, 象牙質知覚過敏症の病態解明と歯質成分により開口象牙細管を封鎖する治療法の開発. *日歯保誌*, 査読(有) 51, 596-598, 2008.
- [学会発表] (計 14 件)
- ① Fujita T, et al. Irsogladine maleate regulates Gingival Epithelial barrier functions in inflammatory condition, IADR general session, Mar 17, 2011, San Diego, USA.
- ② 中西正 他, ヒト歯髄細胞におけるサイトカイン発現に対する Prostaglandin F<sub>2</sub>α の影響, 第 113 回日本歯科保存学会秋季学術大会, 2010, 10, 28, 長良川国際会議場.
- ③ 湯本浩通 他, Streptococci 由来 histon 様由来 DNA 結合タンパク質が THP-1 細胞のサイトカインバランスに及ぼす影響, 第 113 回日本歯科保存学会秋季学術大会, 2010, 10, 28, 長良川国際会議場.
- ④ 細川義隆 他, Catechin が TNFSF14 刺激ヒト歯肉線維芽細胞の IL-6 産生に与える影響, 第 113 回日本歯科保存学会秋季学術大会, 2010, 10, 28, 長良川国際会議場.
- ⑤ 住友孝史 他, Electro-Magnetic Apical Treatment を行った 1 例、第 31 回日本歯内療法学会学術大会、2010. 7. 24、東京商工会議所.
- ⑥ Nakanishi T, et al. Catechins suppress cyclooxygenase-2 expression in human dental pulp cells. IADR general session, Jul 17, 2010, Barcelona, Spain
- ⑦ Takegawa D, et al, Interferon enhances Toll like receptor ligand-induced cytokine production in pulpal cells. IADR general session, Jul 16, 2010, Barcelona, Spain
- ⑧ Tominaga T, et al., Novel therapeutic approach of Electro-Magnetic Wave for infected root canal, IADR general session Jul 16, 2010, Barcelona, Spain.
- ⑨ Yumoto H, et al. Inactivation and bactericidal activity againsu oral bacteria of Electro-Magnetic Wave, IADR general session Jul 15, 2010, Barcelona, Spain.
- ⑩ Suge T, et al, Effects of ammonium hexafluorosilicate concentration on crystallinity of hydroxyapatite powder. 88<sup>th</sup> General Session & Exhibition of the IADR, Jul 15, 2010, Barcelona, Spain.
- ⑪ Suge T, et al., Effects of ammonium hexafluorosilicate concentration on crystallinity of hydroxyapatite powder and enamel. The 11<sup>th</sup> Joint-Scientific meeting between JSCD and KACD, Nov 13, 2009, Cheju, Korea
- ⑫ Shibata S, et al., Dentin surface modification by ammonium hexafluorosilicate with the addition of antimicrobial agent for the prevention of root caries, The 11<sup>th</sup> Joint-Scientific meeting between JSCD and KACD, Nov 2009, Cheju, Korea
- ⑬ Matsuo T, A study of innate immune system of human dental pulp against bacterial invasion. The 15<sup>th</sup> Asian Pacific endodontic Confederation, Apr 25, 2009, Tokyo Japan
- ⑭ Suge T, Effects of ammonium hexafluorosilicate concentration on occluding ability of dentin tubules and composition of the precipitate. The 10<sup>th</sup> Joint-Scientific meeting between

JSCD and KACD, Nov 28, 2008, Seoul,  
Korea

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松尾 敬志 (MATSUO TAKASHI)

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研  
究部・教授

研究者番号：30173800

(2) 研究分担者

尾崎 和美 (OZAKI KAZUMI)

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研  
究部・教授

研究者番号：90214121

中江 英明 (NAKAE HIDEAKI)

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研  
究部・准教授

研究者番号：30227730

菅 俊行 (SUGE TOSHIYUKI)

徳島大学・病院・講師

研究者番号：60243713

細川 義隆 (HOSOKAWA YOSHITAKA)

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研  
究部・助教

研究者番号：90346601

(3) 連携研究者

なし