

令和 3 年 6 月 16 日現在

機関番号：32667

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K11687

研究課題名(和文)放射線による歯胚形成障害のメカニズムの解明～エナメル結節と周囲間葉の遺伝子動態～

研究課題名(英文)Elucidation of the mechanism of irradiated tooth germ formation disorder

研究代表者

岩田 洋 (Iwata, Hiroshi)

日本歯科大学・生命歯学部・准教授

研究者番号：40328860

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：放射線被曝による歯冠形成障害のメカニズムを解明することを想定し、歯冠形成期にあたる胎生期マウスにエックス線照射可能な実験モデルの開発を目指し、その検討を行った。妊娠マウスへの腹部に局所照射する方法(in vivo)、妊娠マウスの子宮から胎子を一時的に取り出して照射して母体に戻す方法(in vivo)、照射した歯胚を器官培養する方法(in vitro)をそれぞれ検討した。
in vivoの方法は、母体や胎子のダメージや実験手技によるコントロールのばらつきが多く、本研究には器官培養法による照射実験が適していると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

小児期の放射線被曝は矮小歯、エナメル質減形成、歯胚の無形成(石灰化不全)などが生じると報告されている。今までに実験動物を扱い、放射線が歯の発生に与える影響について報告されているが、歯の形成障害のメカニズムを解明したものではない。
本研究では、放射線被曝による歯冠形成障害のメカニズムを明らかにすることを目指し、その実験モデルの開発を行う。本研究を行うことにより、放射線被曝による歯胚形成障害の予防法や治療法の開発に寄与できると考える。

研究成果の概要(英文)：In order to elucidate the mechanism of tooth germ formation disorder due to irradiation exposure, we examined an irradiation experimental model on embryonic mice. We investigated a method of locally irradiating the abdomen of pregnant mice (in vivo), a method of temporarily removing the fetus from the uterus of the pregnant mouse (in vivo) and irradiating it back to the mother, and an organ culture method (in vitro). In vivo experiments, there were many variations in control mice due to radiation damage in pregnant and fetal mice and the effects of experimental techniques. Irradiation experiments using the organ culture method were considered to be suitable for this study.

研究分野：歯科放射線

キーワード：放射線被曝 歯胚

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

放射線被曝の影響の1つとして歯の形成異常が挙げられるが、歯の発生の時期に放射線による外的な刺激が加わると歯の形成に重大な影響を及ぼすことが知られている。臨床的な代表例として小児白血病疾患の造血幹細胞移植の前処置が挙げられるが、歯冠形成期における早期の放射線の全身照射が、矮小歯、エナメル質減形成、歯胚の無形成(石灰化不全)を引き起こし、歯冠完成後では歯根形成障害が起こることが報告されている。

歯の発生は、歯胚の上皮と間葉の相互作用による高度な情報伝達が行われ、歯冠、歯根が形成されるが、今までにその分子機構について多くのことが明らかになってきている。放射線被曝による歯胚の形成障害は、この上皮-間葉相互作用に何かしらの影響が生じていることが推測されるが、歯冠形成期におけるこれらの影響を明らかにすることで、小児期に放射線治療を受ける患者の歯胚形成障害の予防法や治療法を開発する上で重要な知見が得られると思われる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、放射線被曝による歯胚形成障害のメカニズムを明らかにすることを念頭に、マウスの臼歯歯冠形成期に当たる胎生期マウスにエックス線照射を行える実験モデルを確立し、放射線照射によるマウスの歯胚に生じた変化を解析することである。解析のターゲットとなる歯胚の歯冠形成期はマウスの胎仔期にあたるため、再現性の高い照射実験方法の確立が重要となる。

3. 研究の方法

初めにマウス胎仔下顎第1臼歯歯胚の発生ステージを確認した。その後、本研究に適した照射実験法の開発を目指して、照射実験方法の検討を行った。

(1) マウス歯胚発生ステージの確認

マウス胎仔の頭部前頭断の薄切、HE染色によりマウス下顎第1臼歯の発生ステージを確認

(2) 放射線照射方法の確立のための検討

妊娠マウス腹部照射法の検討

妊娠マウスの腹部への照射法の確立を目指して、照射器具開発の検討を行い、対象とする胎仔のみに照射可能な「妊娠マウス腹部照射法(図1c)」を開発し、妊娠マウスの体重増加の変化、出産数の検討、胎仔の体重、歯胚形成の確認を検討した。

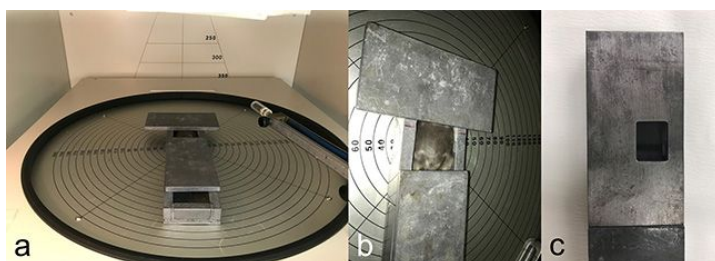


図1
妊娠マウス腹部照射法開発の検討
a エックス線照射装置内部
b 妊娠マウス腹部照射法(予備実験)
c 改良した妊娠マウス腹部照射法

マウス胎仔子宮外発生活法を利用した胎仔マウスへの放射線照射

妊娠マウスから一時的に照射するために胎仔を腹外に出し、その後に腹部に胎仔を戻す方法を検討した。

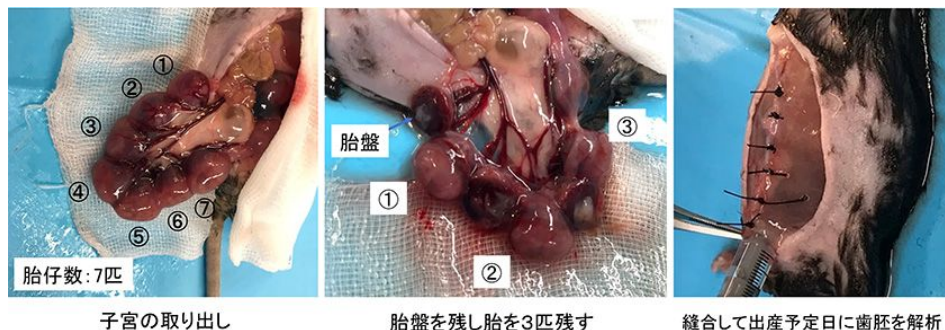


図2 マウス胎仔子宮外発生活法の手順

歯胚器官培養法の検討

マウス歯胚器官培養を利用した照射法の開発を目指し、マウス歯胚発生期の胎仔下顎第1臼歯の器官培養を行うための胎仔歯胚の取り出し方、培養方法の検討を行った。

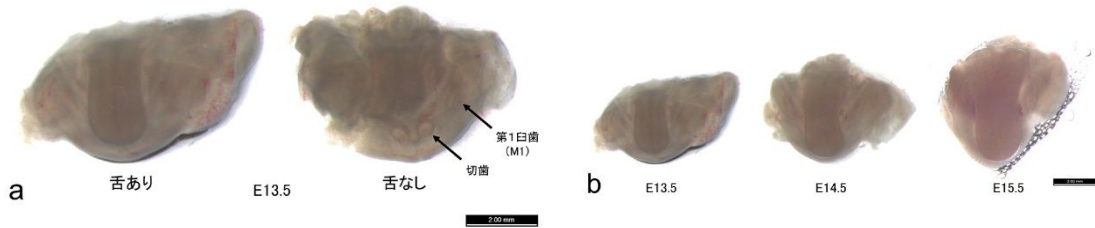


図3 a 実体顕微鏡下のマウス胎仔下顎歯胚の位置 b 実体顕微鏡下のステージ別のマウス胎仔下顎

4. 研究成果

(1) マウス歯胚発生ステージの確認

実験で使用するマウスの下顎第1臼歯は胎生13.5日齢(E13.5)で蕾状期、E15.5あたりから帽状期に変化してE18.5あたりから鐘状期であることが確認できた。

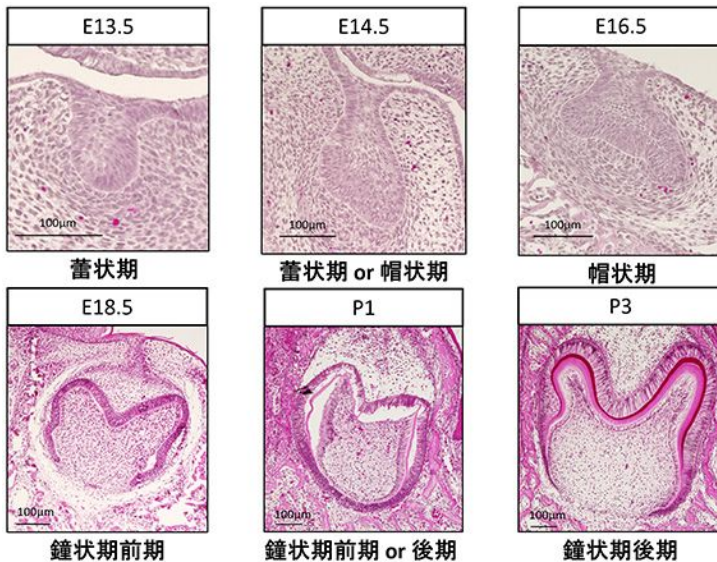


図4 マウス下顎第1臼歯歯胚の発生ステージ

(2) 放射線照射方法の確立のための検討

妊娠マウス腹部照射法開発の検討

胎仔のみに限局できる妊娠マウス腹部照射法により、E13.5(蕾状期)のステージを対象に放射線を0Gy、0.3Gy、1Gy、3Gy照射し、その影響として以下の結果を得た。

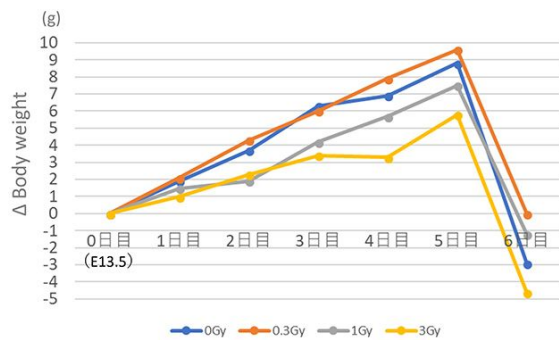


図5 照射線量の違いによる妊娠マウスの体重増加の変化

	出産数			体内残存
	生存	死亡	総数	
0Gy妊娠マウス	7	0	7	0
0.3Gy妊娠マウス	8	0	8	2
1Gy妊娠マウス	7	0	7	0
3Gy妊娠マウス	3	6	9	0

図6 照射線量の違いによる出産匹数

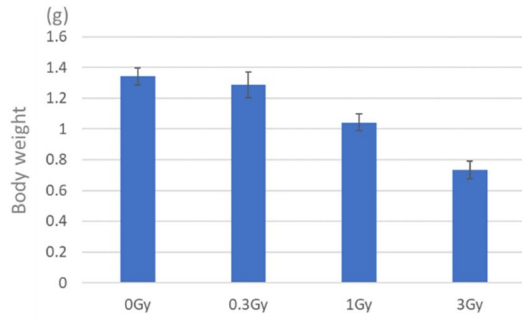


図7 照射線量の違いによる生存新生仔の体重

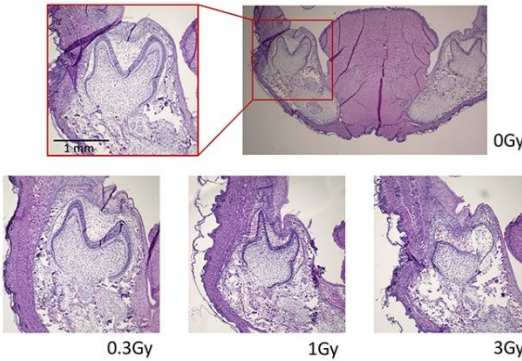


図8 照射線量の違いによる出生マウスの歯胚



図9 妊娠マウス (E13.5) に 5Gy 照射した胎仔 (矢印)
胎仔が生存しておらず、5Gy はマウス胎仔の致死線量であると考えられた。

0Gy から 3Gy まで母体、胎仔共に線量依存的に体重が減少していた。0Gy から 3Gy まで歯胚の形成程度も線量依存的に形成程度が悪くなる傾向がみられたが、象牙質の形成は見られた。5Gy は、マウス胎仔の致死線量であると考えられた。本方法は、母体、胎仔のダメージが大きく、放射線の歯胚への直接的な影響を解析する上では、あまり適さない可能性があると考えられた。

マウス胎仔子宮外発生法を利用した胎仔マウスへの放射線照射

妊娠マウスから一時的に照射するために胎仔 (E13.5) を腹外に出し、その後に腹部に胎仔を戻す方法 (図2) を検討したところ、非照射マウスにおいて、出生時期まで胎仔の生存、成長までを確認することができたが、成功率は低かった。また、生存が確認された例でも同腹内での成長の程度のばらつきが大きく、本研究には適さないと考えられた。

歯胚器官培養法の検討

器官培養法を用いることにより歯胚の発生過程を進めることで、放射線の直接的な歯胚への影響を解析しやすと考えられた。歯胚の発生過程をより確実に進められる培養条件を決めることで、本研究は進められると考えられた。再現性の高い、より良い培養条件を決めるための検討を継続している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 中原貴	4. 巻 52
2. 論文標題 【Special interview】『歯の細胞バンク』がつなく歯科医療と再生医療 「歯を作る」「歯から創る」未来における歯科医師の新たな役割	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 補綴臨床	6. 最初と最後の頁 628-643
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 中原貴	4. 巻 44
2. 論文標題 【歯科の最新テクノロジー】歯の再生医療への期待と現実～新たな医療インフラ「歯の細胞バンク」～	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 デンタルダイヤモンド	6. 最初と最後の頁 106-110
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 小川智久, 角田憲祐, 須永健一, 鈴木麻美, 美濃直輝, 前田祐貴, 阿部恵一, 岩田 洋, 松丸和郎	4. 巻 13
2. 論文標題 口腔内細菌数と揮発性硫黄化合物との関連について	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 ジャパンオーラルヘルス学会誌	6. 最初と最後の頁 19-25
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kodama Y, Harinath D, Mihara-Tomiya N, Tominaga N, Ide Y, Nakahara T, Maeda M, Igarashi M, D'Armiento J, Chada K, Imai K	4. 巻 509
2. 論文標題 Hmga2 regulation of tooth formation and association with Sox2 and Nanog expression	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun	6. 最初と最後の頁 1008-1014
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2019.01.017.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Aikawa C, Nakajima S, Karimine M, Nozawa T, Minowa-Nozawa A, Toh H, Yamada S, Nakagawa I	4. 巻 8
2. 論文標題 NLRX1 Negatively Regulates Group A Streptococcus Invasion and Autophagy Induction by Interacting With the Beclin 1-UVRAG Complex	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Front Cell Infect Microbiol	6. 最初と最後の頁 403
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcimb.2018.00403	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tansriratanawong K, Wongwan P, Ishikawa H, Nakahara T, Wongravee K	4. 巻 60
2. 論文標題 Cellular responses of periodontal ligament stem cells to a novel synthesized form of calcium hydrogen phosphate with a hydroxyapatite-like surface for periodontal tissue engineering	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Oral Sci	6. 最初と最後の頁 428-437
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2334/josnusd.17-0343	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 神垣友希乃、小倉 晋、岩田 洋、代居 敬	4. 巻 30
2. 論文標題 インプラントの経過観察におけるパノラマX線写真の有用性	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 日本口腔診断学会雑誌	6. 最初と最後の頁 231-236
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15214/jsodom.30.231	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 杉浦幹則、赤間亮一、武井正己、富永 毅、岩田 洋、小川智久、北村和夫	4. 巻 12
2. 論文標題 歯科人間ドックにおける歯科技工士支援による義歯検査の有用性について	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 日本歯科人間ドック学会誌	6. 最初と最後の頁 31-36
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計24件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 近澤俊郎、小倉晋、山田麻衣子、石井通勇、是澤和人、伊藤健、柳井智恵、岩田洋
2. 発表標題 上顎洞に迷入したインプラントの5例
3. 学会等名 第23回日本顎顔面インプラント学会総会・学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田中慈久、荘司洋文、丹野咲貴、町田智正、猪俣徹、吉田和正、小林隆太郎、柳下寿郎、岩田洋、勝山直彦
2. 発表標題 咬筋内に発生した神経鞘種の1例
3. 学会等名 第64回日本口腔外科学会総会・学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 齋藤圭輔、林宗廣、辺見卓男、柳下寿郎、岩田洋
2. 発表標題 超音波診断装置を用いた舌癌厚さの計測
3. 学会等名 第22回ジャパンオラルヘルス学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 猪俣徹、荘司洋文、町田智正、北詰栄里、齋藤圭輔、岩田洋、辺見卓男、出雲俊之、柳下寿郎
2. 発表標題 AYA世代に発生した口腔粘表皮癌6例の治療経験
3. 学会等名 第38回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井出吉昭、深田哲也、那須優則、中原貴
2. 発表標題 硬組織ラベリング法による放射線照射したマウス歯胚の根尖部の観察
3. 学会等名 第61回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井出吉昭、深田哲也、那須優則、中原貴
2. 発表標題 マウス下顎第1臼歯歯胚のエックス線局所照射法の確立とその歯根形成への直接的な影響
3. 学会等名 令和元年度歯学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小玉裕樹、富山(美原)希美、富永徳子、井出吉昭、中原貴、前田宗宏、五十嵐勝、今井一志
2. 発表標題 Hmga2の歯胚での発現と下顎骨成長への関与
3. 学会等名 第150回日本歯科保存学会2019年度春季学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 深田哲也、前田宗宏、西田太郎、戸円智幸、橋本修一、五十嵐 勝、筒井健夫
2. 発表標題 ラット炎症歯髓モデルにおける酸化亜鉛ユージノール練和物によるPGE2産生抑制機序の解析
3. 学会等名 日本歯科保存学会2019年度春季学術大会(第150回)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岩田洋, 齋藤圭輔, 林宗廣, 辺見卓男, 柳下寿郎, 北詰栄里, 石垣佳希, 莊司洋文
2. 発表標題 硬口蓋に発生した血管平滑筋腫の1例
3. 学会等名 日本歯科放射線学会第228回関東地方会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井出吉昭, 中原 貴
2. 発表標題 血管損傷による偶発症を念頭においた下顎骨正中部のマイクロCT観察
3. 学会等名 バイオインテグレーション学会第8回学術集会・総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 深田 哲也, 井出 吉昭, 戸円 智幸, 那須 優則, 中原 貴
2. 発表標題 極小領域にX線を照射するためのコリメータの開発
3. 学会等名 第36回日本ヒト細胞学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小玉裕樹, 富山希美, 富永徳子, 井出吉昭, 中原 貴, 前田宗宏, 五十嵐勝, 今井一志
2. 発表標題 Hmga2の歯胚形成と下顎骨への作用について
3. 学会等名 第60回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中原 貴
2. 発表標題 バイオ再生医療をになう歯の細胞バンク
3. 学会等名 バイオインテグレーション学会第8回学術集会・総会，特別講演（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中原 貴
2. 発表標題 歯科がになう再生医療の未来～歯の細胞バンクによる医療インフラをめざして～
3. 学会等名 第36回日本ヒト細胞学会学術集会，会長講演
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 井出吉昭
2. 発表標題 医療におけるデジタル3Dテクノロジー～基礎と応用～，医療におけるデジタル3Dテクノロジーの基礎知識
3. 学会等名 第36回日本ヒト細胞学会学術集会，ワークショップ
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中原 貴
2. 発表標題 歯の細胞バンクがみちびく医科・歯科融合の未来像
3. 学会等名 第36回日本ヒト細胞学会学術集会，シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中原 貴
2. 発表標題 バイオ再生医療における細胞バンクの意義～矯正歯科医の新たな役割を提起する～
3. 学会等名 第77回日本矯正歯科学会学術大会・第7回日韓ジョイントミーティング，教育講演
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中原 貴
2. 発表標題 バイオ再生医療に果たす歯科の役割～歯の細胞バンクによる新たな医歯連携へ～
3. 学会等名 第16回日本再生歯科医学会学術大会・総会，特別講演
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 須永健一、小川智久、岩田 洋、小堀瑛一、角田憲祐、阪奈津子、木庭圭祐、藤沼宏治、竹島明德、札川 新、藤倉枝里子、前田祐貴
2. 発表標題 各種セメントの엑스線不透過性に関する研究
3. 学会等名 第60回春季日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 辺見卓男、飯田昌志、北詰栄里、荘司洋文、岩田洋、添野雄一、出雲俊之、蛭田啓之、柳下寿郎
2. 発表標題 舌下面部粘膜下病変
3. 学会等名 第28回日本臨床口腔病理学会総会・学術大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 辺見卓男、荘司洋文、飯田昌志、北詰栄里、岩田 洋、林 宗廣、添野雄一、出雲俊之、岡部貞夫、蛭田啓之、柳下寿郎
2. 発表標題 舌下面部に生じた血管内筋膜炎の一例
3. 学会等名 平成29年度 日本歯科大学歯学会 第4回ウィンターミーティング
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 浅井まどか、岩田 洋、林 宗廣、浅海利恵子、丹野咲貴、荘司洋文、柳下寿郎、代居 敬
2. 発表標題 歯源性粘液線維腫の一例
3. 学会等名 日本歯科放射線学会第22回臨床画像大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 須永健一、小川智久、岩田 洋、滑川初枝、林 宗廣、富永 毅、杉浦幹則、大嶋依子、沼田充代、植松裕美
2. 発表標題 糖尿病と歯科疾患に関する講演会開催の概要
3. 学会等名 第20回日本歯科人間ドック学会学術大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 岩田 洋、林 宗廣、荘司洋文、阪本まり、南郷孝徳、柳下寿郎
2. 発表標題 膿原性肉芽種の一例
3. 学会等名 日本歯科放射線学会第226回関東地方会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 岩田洋	4. 発行年 2020年
2. 出版社 医歯薬出版	5. 総ページ数 2ページ
3. 書名 歯科臨床における画像診断アトラス第2版 : Chapter8 歯や顎骨に異常を呈する全身疾患および隣接領域に現れる疾患、2 骨系統疾患	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	井出 吉昭 (Ide Yoshiaki) (70409225)	日本歯科大学・生命歯学部・准教授 (32667)	
研究分担者	深田 哲也 (Tetsuya Fukada) (20386254)	日本歯科大学・生命歯学部・助教 (32667)	
研究分担者	中原 貴 (Nakahara Taka) (10366768)	日本歯科大学・生命歯学部・教授 (32667)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------