

平成 21 年 5 月 20 日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2006～2008

課題番号：18390548

研究課題名（和文） 歯・歯周組織再生促進薬の開発

研究課題名（英文） Producing of drugs for regeneration of periodontal tissue

研究代表者

山岡 稔 (YAMAOKA MINORU)

松本歯科大学・歯学部・教授

研究者番号：50064671

研究成果の概要：

本研究では、ポリリン酸による歯と歯周組織の再生促進作用を検討し、新薬の開発に寄与することを目的とした研究を行い、ポリリン酸により、① *In vitro* での検討での基質石灰化および骨形成マーカー遺伝子の発現の促進と、アルカリホスファターゼ活性の誘導、② ビーグル犬を用いた *In vivo* での検討での骨再生誘導、③ 臨床実験での歯周疾患の症状の改善と、歯槽骨の形成が認められた。

以上より、ポリリン酸は骨形成を促進し、また歯・歯周組織再生促進薬としての効果が期待できることが示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	8,000,000	2,400,000	10,400,000
2007年度	3,800,000	1,140,000	4,940,000
2008年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
年度			
年度			
総計	15,300,000	4,590,000	19,890,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：歯・歯周組織・再生

1. 研究開始当初の背景

原始エネルギーとされるポリリン酸は、オルソリン酸 (orthophosphate:P04) が直鎖状に高エネルギーリン酸結合で重合した生体高分子である。単純な構造でありながら、ATP と同等のエネルギーを持つとされる。生物は、ATP を用いてほとんどの物質をリン酸化するが、ATP の代わりにポリリン酸を用いる酵素（進化途上酵素：以下 exopolyphosphatase）が微生物に存在している。一方、哺乳動物ではポリリン酸の存在が明らかにされていない

かったことから、ポリリン酸の生物学的役割については未だ明らかにされていない。2000年に柴らは、ポリリン酸を基質とする exopolyphosphatase 活性が線維芽細胞に存在することを明らかにした (Biochemistry 65:315-23, 2000)。また、Schröder らは、血清、骨芽細胞、歯肉線維芽細胞にその酵素活性が存在すること (Biochemistry 65:353-61, 2000)、さらにセメント芽細胞は、リン酸に対して極めて感受性が高いことが報告された (Nociti FH Jr et al., J Dent Res.

81(12):817-21. 2002). すなわち、生体高分子のポリリン酸が歯と骨の形成に重要な役割を果たしていることが推測された。そこで申請者らは、ポリリン酸が歯と歯周組織の再生促進作用を検討し、新薬の開発に寄与したいと考えた。

2. 研究の目的

ポリリン酸は、無機リン酸のポリマーで、食品に添加されている安全な物質であることから、歯周炎の予防や歯・歯周組織の再生に寄与すれば、安全で低コスト、抗菌薬との交差耐性がない組織再生促進薬として有用性は高い。

ポリリン酸製剤は、医療用医薬品のほか、処方箋なしに薬局などで購入できるスイッチOTC（一般用医薬品）として応用可能な物質であり、社会要請

にこたえる研究として意義がある。具体的には、歯

周組織再生促進剤、骨再生、組織補填剤、歯

髓覆髄剤、創傷治癒促進剤、発毛促進剤、抗菌剤・抗菌素材、含嗽剤、Ca・Mgなどのトラップ材料、歯磨き粉（歯磨剤）への応用、ホワイトニング剤などへの製品化が期待される。

3. 研究の方法

本研究では、平成 21 年度に培養細胞と小動物を用いてポリリン酸の歯周組織構成細胞への作用を検討し、マイクロアレイでポリリン酸による遺伝子の挙動を検討する。平成 22・23 年度は歯の構成細胞に対する作用を研究した上で、ポリリン酸製剤の鎖長、濃度、剤型について検討する。

4. 研究成果

本研究では、ポリリン酸による歯と歯周組織の再生促進作用を検討し、新薬の開発に寄与することを目的とした研究を行い、以下の点について明らかとなった。

1) ポリリン酸により、In vitro での骨芽細胞前駆細胞を用いた検討では、基質灰化が促進する。

2) ポリリン酸は、骨芽細胞前駆細胞の骨形成マーカー遺伝子の発現を促進し、アルカリホスファターゼ活性を亢進させる。

3) ポリリン酸により、アルカリホスファターゼの他、ポリリン酸をリン酸、リン酸オリゴマーに分解するポリホスファターゼ活性が誘導される。

4) ビーグル犬を用いた In vivo での検討では、ポリリン酸により、臼歯部に人為的に作成した骨欠損における骨再生が誘導され

る。

5) 臨床実験では、ポリリン酸を定期的に歯周ポケットに局所投与した患者において、歯周疾患の症状の改善と、歯槽骨の形成が認められる。

以上の結果から、ポリリン酸は骨形成を促進し、また歯・歯周組織再生促進薬としての効果が期待できることが示唆された。

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 7 件)

論文

① Takahashi M, Mizoguchi T, Uehara S, Nakamichi Y, Yang S, Naramoto H, Yamashita T, Kobayashi Y, Yamaoka M, Furusawa K, Udagawa N, Uematsu T, Takahashi N. (2009) Docetaxel inhibits bone resorption through suppression of osteoclast formation and function in different manners. J Bone Miner Metab. 27 (1) 24-35 査読有

② Yamaoka M, Uematsu T, Shiba T, Matsuura T, Ono Y, Ishizuka M, Naramoto H, Takahashi M, Sugiura-Tomita M, Iguchi K, Yamashita S, Furusawa K. (2008) Effect of inorganic polyphosphate in periodontitis in the elderly. Gerodontology. 25(1):10-17. 査読有

③ 上松隆司 (2008) ポリリン酸の生物学的役割 分子化石が骨形成を制御する(総説) 口腔組織培養学会誌 17 巻 2 号 1-13 査読有

④ Hacchou Y, Uematsu T, Ueda O, Usui Y, Uematsu S, Takahashi M, Uchihashi T, Kawazoe Y, Shiba T, Kurihara S, Yamaoka M, Furusawa K. (2007) Inorganic polyphosphate: a possible stimulant of bone formation. J Dent Res. 86(9) 893-897 査読有

⑤ Naramoto H, Uematsu T, Uchihashi T, Doto R, Matsuura T, Usui Y, Uematsu S, Li X, Takahashi M, Yamaoka M, Furusawa K. (2007) Multidrug resistance-associated protein 7 expression is involved in cross-resistance to docetaxel in salivary gland adenocarcinoma cell lines. Int J Oncol. 30(2) 393-401 査読有

⑥ Takashi Uematsu, Hiroko Naramoto, Ryosuke Doto, Takayuki Uchihashi, Takashi Matsuura, Yohei Usui, Setsuko Uematsu, Xianqi Li, Masahiro Takahashi, Minoru Yamaoka and Kiyofumi Furusawa (2006) Refractory Factors in Head and

Neck Cancer: ATP Binding Cassette Transporters Expressed in Head and Neck Cancer Cell Lines. Oral Sci Int 3(2) 72-83 査読有

⑦ Minoru Yamaoka, Masaaki Nakamura, Norimasa Okafuji, Kouichi Yasuda, Hiroko Naramoto, Toshikazu Shiba, Takashi Uematsu, Saburo Kurihara and Kiyofumi Furusawa (2006) Bone Mineral Density in Hemifacial Microsomia. Oral Sci Int 3 (1) 28-34 査読有

[学会発表] (計 39 件)

① Cell Processing Center を利用した骨再生医療の確立 共演 2009.3. 日本再生医療学会総会 (第 8 回) 東京 寺本祐二

② 培養自己骨髄間葉系細胞を骨再生療法に適應するための基礎的研究 共演 2008.12. 日本顎顔面インプラント学会 (第 12 回) 東京 寺本祐二

③ ポリリン酸は骨芽細胞前駆細胞と軟骨前駆細胞の分化を誘導し石灰化を促進する 共演 2008.11. 日本口腔組織培養学会 (第 45 回) 塩尻 内橋隆行

④ ポリリン酸の石灰化促進作用 共演 2008.10. 日本口腔外科学会総会 (第 53 回) 徳島 高田匡基

⑤ Cell Processing Center を利用した培養自己骨髄間葉系細胞移植による骨再生療法の確立 共演 2008.10. 日本口腔外科学会総会 (第 53 回) 徳島 寺本祐二

⑥ 癌細胞における Tetraspanin CD82/KAI-1 の発現と形質変化 共演 2008.10. 日本口腔外科学会総会 (第 53 回) 徳島 丹羽 崇

⑦ 癌細胞における Tetraspanin CD82/KAI-1 の発現と形質変化 共演 2008.10. 日本癌学会総会 (第 67 回) 名古屋 高橋美穂

⑧ 口腔インプラント治療に対する患者アンケート調査 共演 2008.9. 日本口腔インプラント学会総会 (第 38 回) 東京 寺本祐二

⑨ Inorganic polyphosphate accelerates bone mineralization 共演 2008.7. IADR/AADR 86th General Session Toronto, Canada Uchihashi T et al.

⑩ Tetraspanin KAI-1 / CD82 affects cancer cell migration and enzyme expression 共

演 2008.7. IADR/AADR 86th General Session Toronto, Canada Takahashi M et al.

⑪ 口底正中部に生じた比較的大きな類表皮嚢胞の 1 例 共演 2008.5. 日本口腔外科学会中部地方会 (第 33 回) 岐阜 寺本祐二

⑫ 癌細胞における Tetraspanin CD82/KAI-1 の発現と形質変化 共演 2008.4. 日本口腔科学会総会 (第 62 回) 福岡 高橋美穂

⑬ 炭酸ガスレーザーの歯周疾患に対する作用 共演 2008.4. 日本口腔科学会総会 (第 62 回) 福岡 内橋隆行

⑭ タキサン系抗癌剤ドセタキセルの骨吸収抑制作用 共演 2007.12. 第 44 回日本口腔組織培養学会 松山 高橋昌宏

⑮ MRP7 の発現が唾液腺癌細胞の薬剤交差耐性に関与する 共演 2007.10. 日本癌学会総会 (第 66 回) 横浜 内橋隆行

⑯ テトラスパニン CD82/KAI-1 による c-Met シグナル伝達の制御が癌細胞遊走に影響を与える 共演 2007.10. 日本癌学会総会 (第 66 回) 横浜 高橋美穂

⑰ 抗癌剤ドセタキセルの破骨細胞分化誘導、機能に関する作用 共演 2007.10. 日本癌学会総会 (第 66 回) 横浜 高橋昌宏

⑱ 癌細胞における Tetraspanin KAI-1/CD82 の発現と形質変化 共演 2007.9. 日本口腔外科学会総会 (第 52 回) 名古屋 高橋美穂

⑲ ポリリン酸の石灰化促進作用 共演 2007.9. 日本口腔外科学会総会 (第 52 回) 名古屋 内橋隆行

⑳ ポリリン酸は骨形成を促進する 共演 2007.7. 日本骨代謝学会学術集会 (第 25 回) 大阪 内橋隆行

㉑ ポリリン酸の骨芽細胞と破骨細胞に対する作用 共演 2007.4. 日本口腔科学会総会 (第 61 回) 神戸 内橋隆行

㉒ 頭頸部癌の治療抵抗性因子 ABC トランスポーターの発現が薬剤耐性に関与する 共演 2007.4. 日本口腔科学会総会 (第 61 回) 神戸 榎本浩子

㉓ 頭頸部癌における宿主免疫抑制機構 共演 2007.4. 日本口腔科学会総会 (第 61 回) 神戸 上松隆司

- ②4 唾液腺癌細胞における抗癌剤多剤耐性の獲得 MRP7 はドセタキセル耐性に関与する
共演 2006.11. 第43回日本口腔組織培養学会 大阪 榎本浩子
- ②5 口腔乾燥症に対する漢方薬の臨床効果
共演 2006.11. 長野県口腔外科談話会(第7回) 岡谷 小野祐輔
- ②6 舌・口唇・頬粘膜にアミロイドーシスを併発した再発多発性骨髄腫の一例 共演
2006.10. 日本口腔科学会中部地方会(第49回) 堂東亮輔
- ②7 口腔乾燥症に対する漢方薬の臨床的成績
共演 2006.10. 日本口腔外科学会総会(第51回) 小倉 小野祐輔
- ②8 頭頸部癌細胞と骨関連細胞における ATP binding cassette transporter 発現の比較
共演 2006.10. 日本口腔外科学会総会(第51回) 小倉 榎本浩子
- ②9 唾液腺癌における薬剤排泄機構の解析
共演 2006.10. 日本口腔外科学会総会(第51回) 小倉 内橋隆行
- ③0 ビーグル犬を用いたポリリン酸製剤による歯周組織再生促進作用の検討 共演
2006.9. 日本矯正歯科学会大会(第65回) 薄井陽平
- ③1 骨関連細胞に対するポリリン酸の作用に関する検討 共演 2006.7. 日本骨代謝学会
学術集会(第24回) 東京 内橋隆行
- ③2 Effect of inorganic polyphosphate on osteoblastic and periodontal ligament cells 共演
2006.6. IADR/AADR 84th General Session Brisbane, Australia Uematsu S et al.
- ③3 Anticancer Immunity by OK-432-conjugated Tumor Vaccine in Mice Cancer Model 共演
2006.6. IADR/AADR 84th General Session Brisbane, Australia Li X et al.
- ③4 Expression of drug transporters in cancer cells and bone-related cells 共演
2006.6. IADR/AADR 84th General Session Brisbane, Australia Naramoto H et al.
- ③5 ATP-binding cassette transporters in salivary gland adenocarcinoma 共演 2006.

6. IADR/AADR 84th General Session Brisbane, Australia Doto R et al.

③6 Head and neck cancer cell-derived alpha-N-acetylgalactosaminidase deglycosidases O-linked glycoproteins 共演
2006.6. IADR/AADR 84th General Session Brisbane, Australia Uematsu T et al.

③7 MRP7 expression is a refractory factor in salivary gland adenocarcinoma 共演
2006.6. IADR/AADR 84th General Session Brisbane, Australia Uchihashi T et al.

③8 頭頸部癌細胞と骨関連細胞における ATP binding cassette transporter の発現 2006.
4. 日本口腔科学会総会(第60回) 名古屋 榎本浩子

③9 唾液腺癌の治療抵抗性因子 ATP binding cassette transporter super-family の発現と多剤耐性獲得機構の解析 2006.4. 日本口腔科学会総会(第60回) 名古屋 内橋隆行

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山岡 稔 (YAMAOKA MINORU)

(松本歯科大学・歯学部・教授)

研究者番号: 50064671

(2) 研究分担者

上松隆司 (UEMATSU TAKASHI)

(松本歯科大学・大学院独立研究科・准教授)

研究者番号: 40203476

高橋昌宏 (TAKAHASHI MASAHIRO)

(松本歯科大学・歯学部・助教)

研究者番号: 90340059

松浦 隆 (MATSUURA TAKASHI)

(松本歯科大学・歯学部・講師)

研究者番号: 10298408

堂東亮輔 (DOTO RYOSUKE)

(松本歯科大学・歯学部・助教)

研究者番号: 40329470

内橋隆行 (UCHIHASHI TAKAYUKI)

(松本歯科大学・歯学部・助教)

研究者番号: 70397628

榎本浩子 (NARAMOTO HIROKO)

(松本歯科大学・歯学部・助教)

研究者番号: 30410426

上松節子 (UEMATSU SETSUKO)

(大阪大学・歯学部付属病院・講師)

研究者番号: 80271378

薄井陽平 (USUI YOHEI)
(松本歯科大学・歯学部・助教)
研究者番号：00387424
寺本祐二 (TERAMOTO YUJI)
(松本歯科大学・歯学部・助手)
研究者番号：80460442
高橋美穂 (TAKAHASHI MIHO)
(松本歯科大学・歯学部・助教)
研究者番号：00444795