

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：10101

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K24110

研究課題名(和文) Colloidal Platinum Nanoparticles and Phosphorylated Pullulan improve the pulp capping capability of Mineral trioxide Aggregate

研究課題名(英文) Colloidal Platinum Nanoparticles and Phosphorylated Pullulan improve the pulp capping capability of Mineral trioxide Aggregate

研究代表者

CHOWDHURY ABU・FAEM・MOHAMMAD・ALMAS (CHOWDHURY, Abu Faem Mohammad Almas)

北海道大学・歯学研究院・博士研究員

研究者番号：00844440

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：研究1は、白金ナノコロイド粒子(CPN)がウイスターラットの歯髄で良好な治癒機転を示しました。CPNの治癒反応は、現在の「ゴールドスタンダード」覆髄材料であるミネラルトリオキシドアグリゲート(MTA)に匹敵しました。研究2では、CD34内皮細胞の存在の確認により脈管形成が明らかになりました。また、DMP1の存在により、治癒の特徴である石灰化組織の誘導が明らかになりました。私たちの研究結果から、露髄後の歯髄治癒においては、MTAとリン酸化プルラン(PPL)の組み合わせが良好な結果を示しました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の研究では、ウイスターラットを用いて確立された実験モデルを適用しました。これを用いて、新規材料に対する歯髄の反応について詳細に検討しました。今回の研究結果によると、PLとPtの双方が良好な歯髄反応をもたらしました。PLとPtをMTAの合材に用いると、覆髄材料の接着能力が向上し、殺菌特性が追加され、更なる細菌の侵入が防止される可能性があります。覆髄材にこの組み合わせを採用することで、より多くの虫歯や外傷で傷ついた歯を救うことができると考えられます。

研究成果の概要(英文)：Study 1 demonstrated that Colloidal Platinum Nanoparticles (CPN) showed favorable healing responses in Wister rat's dental pulp. CPN's healing responses were comparable to the current "gold standard" pulp capping material - Mineral trioxide aggregate (MTA). In Study 2, the confirmation of the presence of CD34 endothelial cells revealed vasculogenesis, while the presence of DMP1 revealed mineralized tissue induction - the hallmarks of healing. Our findings indicated the suitability of the MTA and Phosphorylated Pullulan (PPL) combination in pulpal healing after exposure.

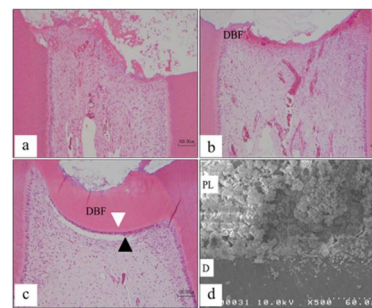
研究分野：歯科保存学

キーワード：Pulp capping MTA Inflammation Mineralization CPN

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

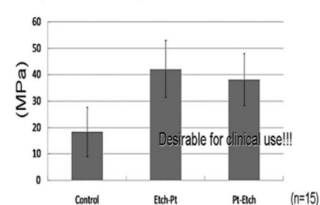
(1) 近年臨床で多用されている覆髄材料として、Mineral trioxide aggregate (MTA) は 85% の臨床的成功率を示しています (Bogen et al., 2005, The J Am Dent Assoc. 139(3): 305-315)。しかし、臨床で使用する際に、MTA は硬化時間が長く、取り扱いが難しく、歯の構造への接着能力が劣っています (Ber et al., 2007, J Endod. 33(10): 1231-1234)。最近、Phosphorylated Pullulan (PL) は、硬組織工学における成長因子の担体として用い、MTA との組み合わせで臨床応用を目指しています。(Takahata et al., 2015, Biomed Mater. 10(6): 065009)。私たちの最近のサルの研究では、MTA と PL を使用して直接覆髄に応用してみました。その結果、歯髄の炎症性細胞浸潤は 3 日後に軽度または消失し (Fig. a) 7 日後には象牙質ブリッジ (DBF) が形成されていました。(Fig. b) 70 日後には象牙質ブリッジは厚くなり、象牙細管様構造物が認められました。(Fig. c) SEM 画像は、PL が隙間を残さずに象牙質によく付着し (Fig. d) その後の細菌侵入を防ぐことを示しました。



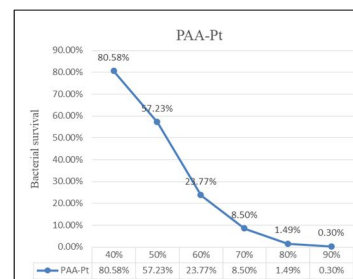
Toida et al., 未公開データ

(2) コロイド状白金ナノ粒子 (Pt) を接着材に用いると、接着強度が 2 倍になることが報告されています (Nagano et al., 2009, Bio-Med Mater and Engin, 19: 249-257)。また Pt は効果的な抗酸化物質であることが示されています (Pulm Pharmacol Ther 2009; 22: 340-349)。Pt は強力な触媒として機能することは良く知られています。(Dent Mater J 2010; 29(6):682-689)。また培養細胞に対しては、クロモグラニン A (CGA) というディフェンシンの発現を誘導します (Basic Medical Sciences 2010; 10: 2-8)。

Pretreatment with Colloidal Platinum Nanoparticles SuperBond C&B (4 META / MMA - TBB resin cement)



(3) 最近の研究では、Pt は Streptococcus Mutans に対して顕著な殺菌活性を示しました。さらに、それはバイオフィーム形成を阻害する働きも示しています。この結果は、Pt が歯科修復材料に組み込むための抗菌剤の候補である可能性があることを示しています。ただし、Pt の生体適合性を調べることも重要です。プラチナは日本の厚生労働省によって消費が認定された食品添加物ですが、ナノサイズのプラチナ粒子は新しい化学的特性を獲得する可能性があります。これは、放射性同位元素が他の物質とは異なる物質として扱われるのと同じように、Pt を新しい物質として扱う必要があることを意味します。



### 2. 研究の目的

#### (1) Study 1:

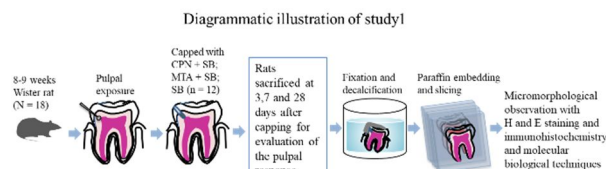
CPN による直接覆髄後の露出した歯髄の治癒反応を調査する。

#### (2) Study 2:

リン酸化プルランと MTA を含む (MTAPPL) 直接覆髄材を直接覆髄に用い、歯髄組織における CD34 および DMP1 抗原の発現を評価する。

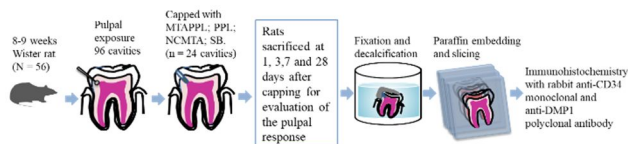
### 3. 研究の方法

(1) 18 匹のウイスターラットの上顎第一大臼歯 36 本で直接覆髄を行った。臼歯の歯髄を意図的に露髄させ、次のグループにランダムに分けました (n = 12): CPN の塗布、続いて 4-META / MMA-TBB 樹脂 (Resin cement Super Bond: SB) の塗布 (CPN + SB) Mineral trioxide aggregate (MTA) アプリケーションとそれに続く SB アプリケーション (MTA + SB) および SB アプリケーション (SB)。歯髄の反応は、3、7、28 日後に評価されました。Kruskal-Wallis 検定とマン・Mann-Whitney U 検定を使用して統計分析を実行しました。



( 2 ) 56 個のオスのウィスターラットの第一大臼歯から 96 個の虫歯を作成しました。歯髄は意図的に露出され、覆髄材料の用途に応じてランダムに 4 つのグループに分けられました。MTAPPL; Phosphorylated Pullulan (PPL); 従来の MTA (MTA): Nex-Cem

Diagrammatic illustration of study 2

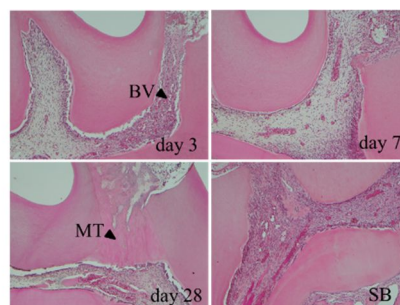


MTA (NCMTA; positive control) および Super Bond (SB; negative control)。すべての虫歯は最終的に SB で回復し、1、3、7、および 28 日目に観察されました。免疫組織化学的染色は、ウサギ抗 CD34 モノクローナル抗体 (希釈率 1 : 200) およびウサギ抗 DMP1 (象牙質基質タンパク質 1) を使用して行いました。ポリクローナル抗体 (希釈率 1 : 500)。

#### 4 . 研究成果

##### ( 1 ) Study 1:

3 日後の炎症性細胞浸潤は、SB と比較して MTA + SB および CPN + SB で有意に低かった。多数の血管が CPN + SB で観察され、急速な血管新生を示しています。7 日後、すべてのグループで石灰化組織の薄層が観察されました。28 日後、MTA + SB および CPN + SB で、石灰化組織による露髄面の完全な閉鎖が観察され、後者は最も厚い石灰化組織層を生成しました。



##### ( 2 ) Study 2:

CD34 抗原の発現は、すべての時間間隔ですべての実験グループで陽性でした。ランダム CD34 +細胞のダウンレギュレーションと、CD34 抗原の強力な発現から内皮細胞表面で識別可能な明確な微小血管の発達が観察されました。DMP1 抗原発現は 1 日目にすべての実験群で陰性でした。DMP1 の陽性染色は NCMTA、MTAPPL および SB 群で観察されましたが、DMP1 の陰性発現は 3 日目に PPL 群で観察されました。7 日目、DMP1 抗原発現はすべての実験群で陽性でした。すべてのグループは、28 日セクションで DMP1 の陽性染色を示し、新しく形成された石灰化組織による象牙芽細胞の分化の存在を示しています。MTAPPL および NCMTA グループで強い発現が観察されました。

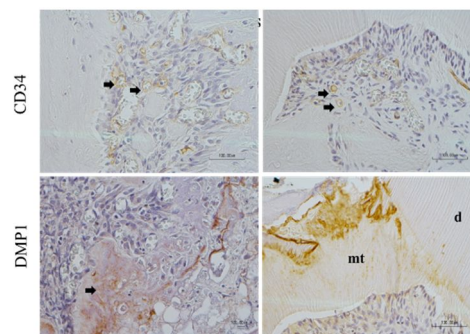


Figure: Results study 2

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Abu Faem Mohammad Almas Chowdhury
2. 発表標題 Effects of Colloidal Platinum Nanoparticles
3. 学会等名 98th General session of the IADR (国際学会)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 Abu Faem Mohammad Almas Chowdhury
2. 発表標題 From the land of royal bengal tigers to the land of rising sun: a reseracher's odyssey
3. 学会等名 Lecture, University of Granada, Spain (招待講演)
4. 発表年 2019年～2020年

〔図書〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------