

平成 22 年 5 月 28 日現在

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20791391

研究課題名（和文） 新規歯髄保護材料の開発に関する基礎的研究

研究課題名（英文） Basic research of the development of new pulp capping agent

研究代表者

小池 俊之(KOIKE TOSHIYUKI)

北海道医療大学 歯学部

研究者番号：10458135

研究成果の概要（和文）：

象牙質の石灰化に重要なタンパクであるフォスフォフォリンをブタ抜去歯から抽出し、I型コラーゲンとの試作複合体を作製した。全身麻酔を施した8週齢ウイスターラットの上顎第1臼歯を用い、露出歯髄に直接試作複合体を移植後、1～3週で屠殺した。ヘマトキシリン-エオジン染色標本での評価の結果、一般的な治療薬である水酸化カルシウム製剤に比べて、本複合体は良質な修復象牙質を再生し、歯髄の炎症も軽度であった。よって、本試作覆髄剤は水酸化カルシウム製剤に代わる材料としての可能性を持つことが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

Phosphophoryn is an important protein in dentin mineralization. It was extracted from pig teeth, and was combined with type 1 collagen as a trial material. This trial material was placed onto the exposed pulp in maxillary first molar of 8 week-old Wistar rats. Rats were sacrificed 1-3 weeks after operation, and teeth were stained with hematoxylin-eosin. In evaluation of reparative dentin formation and pulp inflammation, the stained sections were compared with calcium hydroxide, a common material. The phosphophoryn-collagen complex induced good reparative dentin, and dental pulp inflammation was mild. Therefore, this material was suggested to have a potential as an alternative material of calcium hydroxide.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：歯学

科研費の分科・細目：歯内

キーワード：直接覆髄、フォスフォフォリン、コラーゲン、修復象牙質、水酸化カルシウム製剤、象牙細管、石灰化、生体親和性

1. 研究開始当初の背景

| 深在性う蝕の治療中、う蝕除去後に偶発的

露髄に遭遇する場合がある。その場合の治療法は主に2通り考えられ、1つは露髄部に直接薬剤を接触させ、硬組織を誘導して歯髄を保護し安静化を図る歯髄保護療法（直接覆髄法）、もう1つは歯髄を全て除去する抜髄法である。しかし、歯髄組織を保存する直接覆髄法は適応範囲が狭く、最大露髄径 2mm までの非感染露出歯髄に限定されるほか、防湿等の操作も煩雑で術後不快症状の出現リスクが高いことから避けられ、深在性う蝕の治療においては抜髄法が適用されることが多い。

歯髄組織は知覚の受容と伝達、持続的な象牙質形成と栄養補給、外部侵襲に対する象牙質細管の石灰化や修復象牙質形成、さらに細菌性刺激に対する免疫的防御機構など、様々な機能を持つ重要な組織である。そのため、抜髄法により歯髄を喪失した歯はう蝕抵抗性が低下し、根尖病巣の形成や歯の変色、破折などを引き起こすリスクが高くなり、その結果それらは歯の喪失につながってしまう。

古くから直接覆髄剤として水酸化カルシウム製剤が広く使用されてきており、現在も一般に使用されている。しかし、水酸化カルシウムは pH12 前後という高アルカリ性であるため、歯髄為害性が高いことが大きな欠点の一つである。そのため、歯髄表面に壊死層を形成し、結果的には慢性炎症を持続させてしまう可能性がある。さらに、露出歯髄を覆うように形成される修復象牙質は高確率で裂隙や欠損を有する不完全な修復象牙質であるため、そこが外界と交通することで感染経路となり、歯髄の炎症を持続、悪化させる原因と報告されていることから、水酸化カルシウム製剤による直接覆髄の治療成績は必ずしも満足できるものではない。

適切な歯内治療、修復治療を施すことで歯牙をできるだけ長く保存し、咀嚼機能を営ませることは歯科医師にとって重要な課題である。したがって、歯髄を保存するために生体親和性を有し、かつ短期間で積極的に高品質な修復象牙質を誘導する新しい技術および材料の開発が歯の保存を飛躍的に発展させることになる。

2. 研究の目的

現在、覆髄剤として広く普及している水酸化カルシウム製剤は安価である反面、高アルカリ性のため組織刺激性が強く、さらに2～3ヶ月という長い治療期間を要して形成される修復象牙質は多孔性で裂隙を含むことが多いため、そこが感染経路となって歯髄炎を惹起させるなどの問題点が挙げられる。

本研究の目的は、水酸化カルシウム製剤に取って代わる新規歯髄保護材料の開発を目指し、生体親和性を有するコラーゲンと生体

活性型ペプチドを用いた新規覆髄剤開発のための基礎データを動物実験によって蓄積し、解析することである。

3. 研究の方法

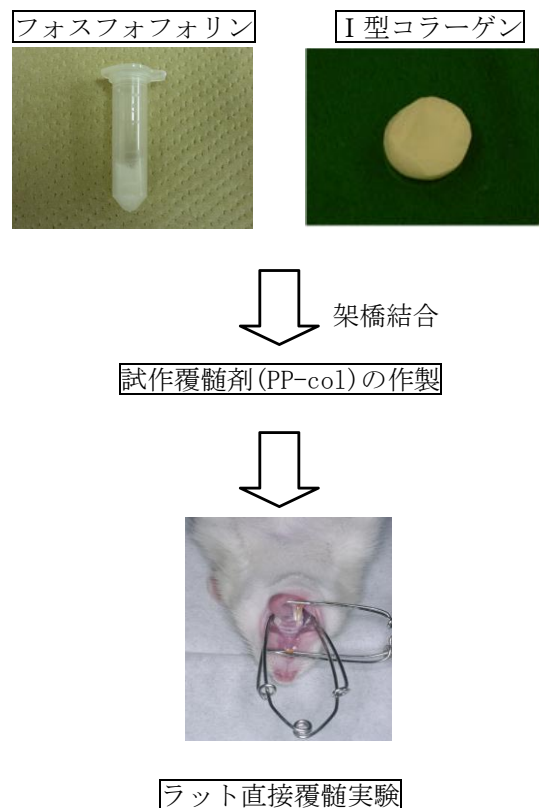
新鮮なブタ下顎骨から歯を抜去し、軟組織除去後、粉碎して象牙質粉を得た。

脱灰、透析、カルシウム沈殿、DEAE カラムクロマトグラフィー、リン酸分析等の工程を経てフوسفオフォリンを抽出した。

I型コラーゲン(col)とフوسفオフォリン(PP)をジビニルスルホンにて架橋結合させ、試作覆髄剤(PP-col)を作製した。

深在性う蝕のモデルとして、全身麻酔を施したラットの臼歯を直径 0.5mm の滅菌ラウンドバーにて切削して人工的歯牙露髄面を作成した。そこに PP-col、col、水酸化カルシウム製剤を用いて直接覆髄を施した。

覆髄後 1～3 週で屠殺し、病理組織学的観察のために H-E 染色標本を作製し、修復象牙質と歯髄の炎症程度の分析を行った。同様に col 単独の場合と、一般歯科臨床で用いられている水酸化カルシウム製剤によるラット直接覆髄実験も行い、それぞれの場合における修復象牙質形成過程、炎症の程度などを比較した。



4. 研究成果

PP-col 群では、術後 2 週目において周囲象牙質と連続した細管構造を有する修復象牙質によって露髄面がほぼ封鎖されていた。さらに 3 週目では、より明瞭な細管構造を有し、かつ厚みのある修復象牙質形成が認められ、露髄面を完全に覆っていた。

修復象牙質内部には裂隙や空洞などの欠陥は観察されず、その構造は緻密なものであった。

また、その直下には規則的な象牙芽細胞の配列が観察された。歯髄には軽度の歯髄充血が認められる程度であり、強い炎症反応は観察されなかった (図 1)。



図 1. PP-col による覆髄(術後 3 週)
D:象牙質、R:修復象牙質、P:歯髄
Bar=500um

一方、col 群では、術後 1 週目から露髄面に点在して誘導された修復象牙質が認められたが、3 週目になっても完全に露髄面を封鎖するまでには至らなかった。しかし、全実験期間を通して歯髄に強度の炎症は認められなかった (図 2)。

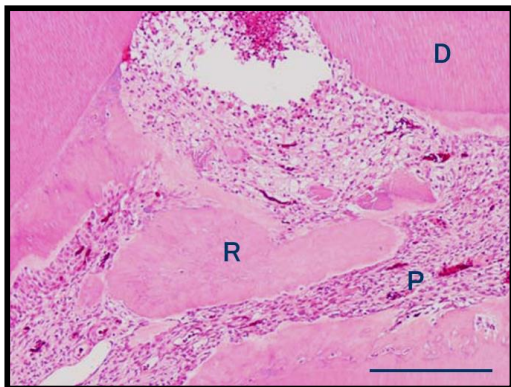


図 2. col による覆髄(術後 3 週)
D:象牙質、R:修復象牙質、P:歯髄
Bar=500um

水酸化カルシウム製剤群では、術後 1 週目で露髄面に壊死層の形成を認め、歯髄には強い炎症反応が術後 3 週目まで持続していた。また、術後 2 週目では誘導された修復象牙質によって露髄面が覆われ、3 週目ではその厚みが増加し、完全に露髄面を覆っているように見えた。しかし、修復象牙質直下の象牙芽細胞層は不明瞭であり、修復象牙質内部は多孔性で、トンネル状の欠損や裂隙が多数存在しており、これまでの報告と一致していた (図 3)。

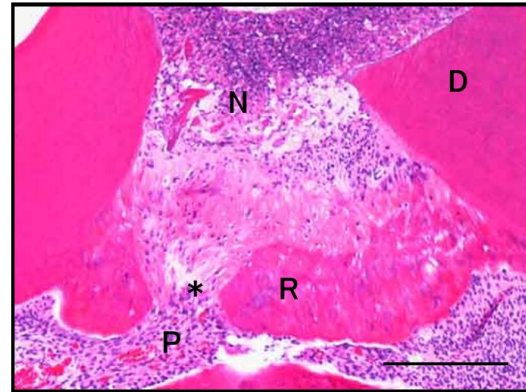


図 3. 水酸化カルシウム製剤による覆髄(術後 3 週)
D:象牙質、R:修復象牙質、P:歯髄、N:壊死層
*:裂隙、Bar=500um

術後 3 週目の PP-col 群によって誘導された修復象牙質の緻密度は約 97%と最も高く、以下 col 群が約 91%、水酸化カルシウム製剤群が約 84%という結果となった。

これらの結果から、フォスフォリン-I 型コラーゲン複合体は、従来から使用されている水酸化カルシウム製剤と比較して緻密で良質な修復象牙質を誘導し、生体親和性にも優れた材料であることが明らかになった。

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 2 件)

- ① 小池 俊之、半田慶介、斎藤隆史、Phosphophoryn/アルギン酸ゲル複合体によるラット象牙質形成、北海道医療大学雑誌、査読有、28 巻、2 号、2009、14
- ② Y. Yasuda, T. Koike, T. Kawamorita, T. Saito、Adiponectin induces dentin

sialophosphoprotein in rat dental pulp cells:an in vitro study、J Endod 34, 679-683 2008

〔学会発表〕(計 9 件)

- ① 半田慶介、小池俊之、林敬次郎、斎藤隆史、直接覆髄法における高周波ラジオ波メスの応用、第 131 回日本歯科保存学会、2009 年 10 月 29-30 日、仙台国際センター(宮城県)
- ② 小池俊之、半田慶介、斎藤隆史、Phosphoryn/アルギン酸ゲル複合体によるラット象牙質形成、第 7 回日本再生歯科医学会、2009 年 9 月 12 日、九州歯科大学講堂(福岡県)
- ③ 小池俊之、半田慶介、斎藤隆史、rhBMP-2/クラビオ AG 複合体によるラット修復象牙質形成、第 50 回歯科基礎医学会学術大会、2008 年 9 月 23-25 日、TOC 有明コンベンションホール(東京都)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小池 俊之 (KOIKE TOSHIYUKI)

北海道医療大学・歯学部・助手

研究者番号：10458135