

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 31 日現在

機関番号：30110

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22791841

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 助手

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、2～4週で屠殺した。自動研磨機にて露髄面と修復象牙質が観察できるように実験歯を研削し、走査型電子顕微鏡にて修復象牙質の微細構造を観察した。その結果、一般的な治療薬である水酸化カルシウム製剤の場合に比べて、本複合体は細管構造を含む良質な修復象牙質を再生し、露髄面を封鎖していた。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 porcine 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 2-4 weeks after operation, and teeth were cut for mesial-distal plane by using an automatic grinder. Sections were analyzed by scanning electron microscopy. In trial material group, reparative dentin had dentinal tubules, and enough to seal exposed pulp area compared with calcium hydroxide, a common material. 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
2010年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

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：直接覆髄、フォスフォリン、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

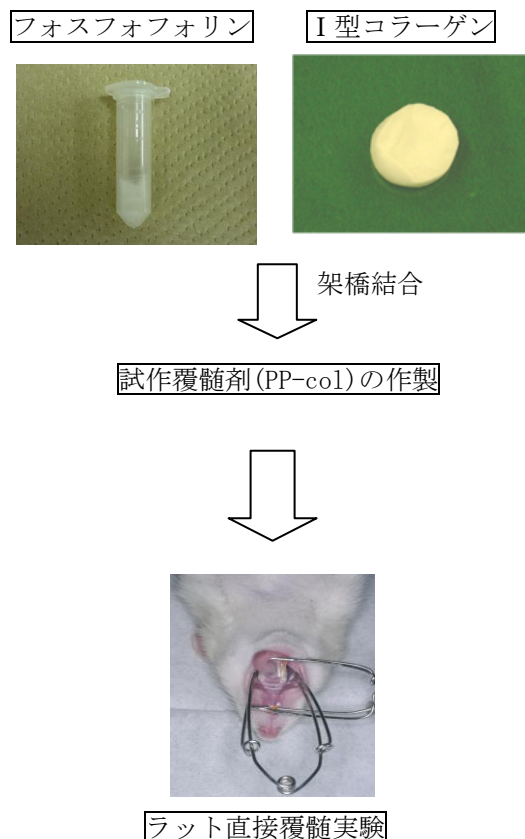
新鮮なブタ下顎骨から歯を抜去し、軟組織除去後、粉碎して象牙質粉を得た。

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 2、4 週で屠殺し、固定後、回転式研磨機にて頬側面から切削することで標本を作製した。メチレンブルー染色にて修復物の形成、緻密さを肉眼的に観察し、走査型電子顕微鏡にて修復象牙質の形態学的観察を行った。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いても修復象牙質の形態学的観察を行った。



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 4 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。(図 1)。

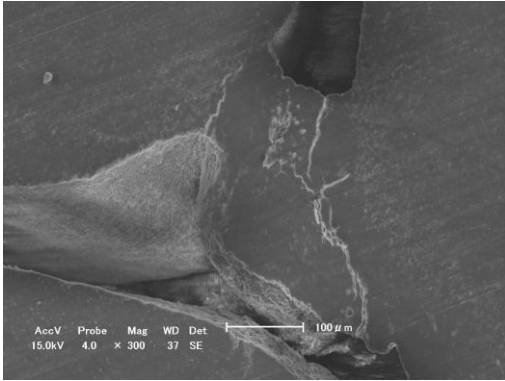


図 1. PP-col による覆髄(術後 4 週)

一方、Col 群では、術後 2 週目、4 週目ともに露髄面の完全封鎖は認められなかった(図 2)。

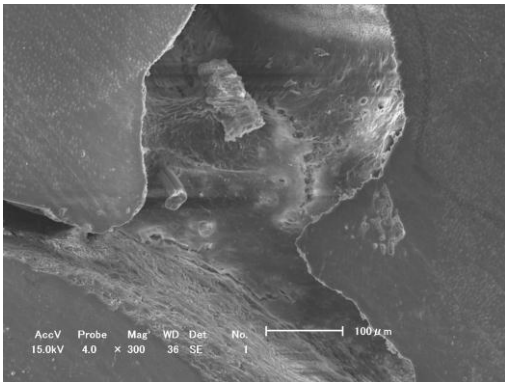


図 2. Col による覆髄(術後 4 週)

水酸化カルシウム製剤群では、術後 2 週目から修復象牙質形成が認められるが、露髄面を封鎖するには至らなかった。術後 4 週目ではその厚みが増加し、露髄面を封鎖しているように見えるが、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)。

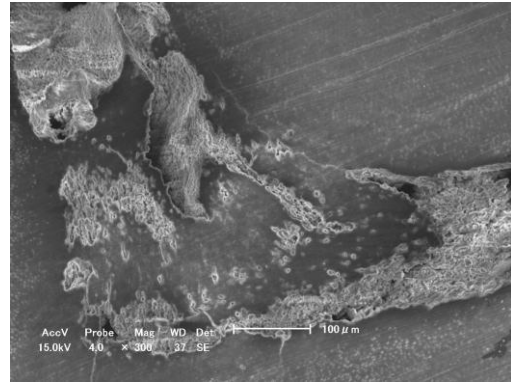


図 3. 水酸化カルシウム製剤による覆髄(術後 4 週)

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、その構造はまさしく象牙質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 1 件)

- ① 小池俊之、半田慶介、林敬次郎、Mohammad Ali Akbor Polan、斎藤隆史、ラット上顎臼歯における BMP-石灰藻由来ヒドロキシアパタイト複合体の修復象牙質誘導、北海道医療大学雑誌、査読有、29 巻、2 号、2009、183-189

[学会発表] (計 6 件)

- ① 小池俊之、半田慶介、林敬次郎、斎藤隆史、フォスフォリン-コラーゲン誘導性ラット修復象牙質の微細形態学的研究、第 135 回日本歯科保存学会、2011 年 10 月 20 日、大阪国際交流センター(大阪府)
- ② 小池俊之、半田慶介、林敬次郎、斎藤隆史、フォスフォリン誘導性ラット修復象牙質の微細形態学的研究、第 9 回日本再生歯科医学会、2011 年 9 月 10 日、大阪国際会議場(大阪府)
- ③ 小池俊之、半田慶介、林敬次郎、斎藤隆史、Micro morphological study of reparative dentin induced by phosphophoryn in rats、The 3rd International Symposium on Surface and Interface of Biomaterials (SIB 2011)、2011 年 7 月 14 日、北海道大学カンファレンスホール(北海道)
- ④ 小池俊之、半田慶介、林敬次郎、斎藤隆

史、Micro morphological study of reparative dentin induced by phosphophoryn in rats、International dental materials congress 2011、2011年5月28日、延世大學校（韓国）

- ⑤ 小池俊之、半田慶介、林敬次郎、斎藤隆史、フオスフォフォリン誘導性ラット修復象牙質に関する微細形態学的研究、第56回日本歯科理工学会、2010年10月9日、長良川国際会議場（岐阜県）
- ⑥ 小池俊之、半田慶介、林敬次郎、斎藤隆史、フオスフォフォリン誘導性ラット修復象牙質に関する微細形態学的研究、第132回日本歯科保存学会、2010年6月4日、熊本国際交流会館（熊本県）

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