

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 30 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23792167

研究課題名(和文)半導体レーザーによる歯髄内硬組織形成—非コラーゲン蛋白の局在と遺伝子発現解析—

研究課題名(英文) Gene Expression Analysis of Non-collagenous Proteins in GaAlAs Laser Irradiated Rat Molars

研究代表者

重谷 佳見 (Shigetani, Yoshimi)

新潟大学・医歯学系・助教

研究者番号：80397132

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：半導体レーザー照射後に第三象牙質または骨様硬組織形成が生じる。しかしながら、遺伝子レベルでの知見ははまだ見当たらない。本研究では、硬組織形成過程における各種硬組織関連の遺伝子解析を行った。その結果、半導体レーザー照射されたラット臼歯歯髄において、新生硬組織形成に先立ち各種硬組織関連タンパクの mRNA 発現レベルの上昇が認められた。以上の事から、硬組織関連が新生硬組織形成細胞の分化過程に何らかの役割を果たしていることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Irradiation of gallium-aluminum-arsenide (GaAlAs) laser to rat molars induces mineralized tissue formation in the pulp chamber. This study aimed to analyze mRNA expression of mineralized tissue matrix proteins during early phases of the laser-induced mineralized tissue formation. Expression levels of mineralized tissue matrix protein mRNAs peaked prior to the mineralized tissue formation after laser irradiation. These proteins might play some role in the cytodifferentiation of newly-generated mineralized tissue-forming cells.

研究分野：歯学

科研費の分科・細目：保存治療系歯学

キーワード：象牙質・歯髄複合体 レーザー 免疫組織化学的 遺伝子

1. 研究開始当初の背景

近年、各種歯科用レーザーの有効性が注目され、窩洞形成、象牙質知覚過敏処置等のさまざまな用途に臨床応用が試みられている。ところが、レーザー照射後の象牙質/歯髄複合体の反応に関する分子・遺伝子レベルの知見は未だ不十分であり、臨床応用に先立ち検討が急務となっている。

2. 研究の目的

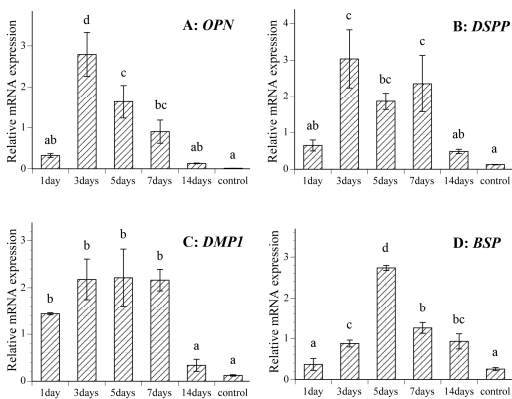
半導体レーザー照射後のラット臼歯における各種硬組織関連非コラーゲンタンパク、すなわち osteopontin (OPN), dentin sialophosphoprotein (DSPP), dentin matrix protein 1 (DMP1), および bone sialoprotein (BSP)の遺伝子発現動態を定量解析し、さらに免疫組織化学的にタンパク発現の時空間的変動や細胞増殖、分化の様相も検討することにより、各種非コラーゲンタンパクの硬組織形成誘導への関与の実態を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

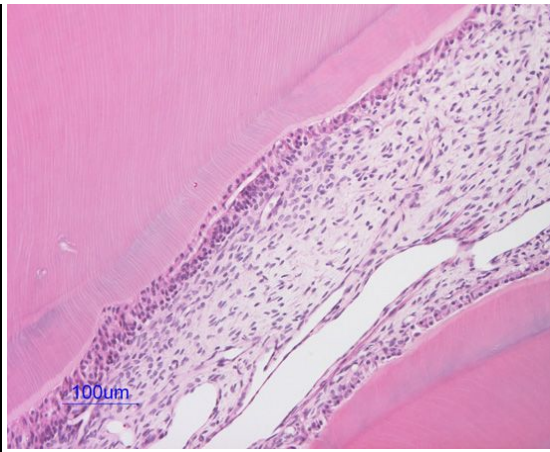
ラット臼歯に各種エネルギー条件で半導体レーザーを照射し、その後の象牙質・歯髄複合体の修復過程、特に新生硬組織形成過程について、リアルタイム PCR 法にて硬組織関連タンパクに対する遺伝子発現の経時的变化を定量解析する。さらに象牙芽細胞分化マーカー、あるいは幹細胞/前駆細胞マーカー発現細胞の局在変化、および硬組織基質蛋白発現細胞の局在変化について、組織学的・免疫組織化学的検索を行う。

4. 研究成果

OPN, DSPP, DMP1 の mRNA 発現レベルは、3 日後に上昇して、5 日後に低下した。また、7 日後には ON, OC, DSPP, DMP1 の mRNA 発現レベルが再び上昇した。



組織学的には、1-3 日後では象牙芽細胞を含む歯髄細胞の壊死が照射部を中心に拡大したが、5 日後では同部に細胞の再分布が観察され、7 日後には HSP-25 陽性の象牙芽細胞様細胞と少量の新生硬組織が認められた。14 日後では、第三象牙質または骨様硬組織が歯髄腔内で多量に形成された。



半導体レーザー照射 3 日後での硬組織関連タンパク mRNA 発現の上昇から、これらのタンパクが新生硬組織形成細胞の分化過程に何らかの役割を果たしていることが示唆される。また、照射 7 日後での mRNA 発現レベルの上昇は、その後の新生硬組織形成に関連したものと推察される。

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 10 件)

1. Shigetani Y, Suzuki H, Ohshima H, Yoshiba K, Yoshiba N, Okiji T: Odontoblast response to cavity preparation with Er:YAG laser in rat molars: an immunohistochemical study. *Odontology* 101(2): 186-192, 2013. (査読有り)
2. Yamanaka Y, Shigetani Y, Yoshiba K, Kaneko T, Yoshiba N, Okiji T. Evaluation of the responses of MHC class II molecule-expressing cells and macrophages to epoxy resin-based and 4-META-containing, methacrylate resinbased root canal sealers in rat subcutaneous tissue. *Dent Mater J* 32(5): 822-827, 2013. (査読有り)
3. 伊藤崇史, 山中裕介, 金子友厚, 吉羽邦彦, 吉羽永子, 重谷佳見, 興地隆史. Mineral trioxide aggregateに対するラット皮下結合組織の応答-マクロファージ関連分子の免疫組織化学的・分子生物学的

- 解析- 日歯保存誌 56(1); 9-16, 2013.
(査読有り)
4. 吉羽永子, 吉羽邦彦, 大倉直人, 重谷佳見, 武井絵梨花, 細矢明宏, 中村浩彰, 興地隆史. ヒト歯髄創傷治癒過程における細胞外基質の局在変化-Fibrillin-1基質の動的リモデリングに関する検索-. 日歯保存誌 56(3): 161-168, 2013. (査読有り)
 5. Yoshiba N, Yoshiba K, Ohkura N, Hosoya A, Shigetani Y, Yamanaka Y, Izumi N, Nakamura H, Okiji T. Expressional alterations of fibrillin-1 during wound healing of human dental pulp. Journal of Endodontics 38(2): 177-184, 2012(査読有り)
 6. Yamanaka Y, Kaneko T, Yoshiba K, Kaneko R, Yoshiba N, Shigetani Y, NÖr JE, Okiji T: Expression of angiogenic factors in rat periapical lesions. Journal of Endodontics 38(3): 313-317, 2012(査読有り)
 7. Ohkura N, Shigetani Y, Yoshiba N, Yoshiba K, Okiji T: Gene Expression analysis of membrane transport proteins in normal and lipopolysaccharide-inflamed rat dental pulp. Journal of Endodontics 38(5): 648-652, 2012. (査読有り)
 8. Yoshiba N, Yoshiba K, Ohkura N, Shigetani Y, Takei E, Hosoya A, Nakamura H, Okiji T. Immunohistochemical analysis of two stem cell markers of α -smooth muscle actin and STRO-1 during wound healing of human dental pulp. Histochem Cell Biol 138(4): 583-592, 2012. (査読有り)
 9. Shigetani Y, Sasa N, Suzuki H, Okiji T, and Ohshima H. GaAAs Laser Irradiation Induces Active Tertiary Dentin Formation Following Pulpal Apoptosis and Cell Proliferation in Rat Molars. Journal of Endodontics, 2011, 37(8), 1086-1091.(査読有り)
 10. Yamanaka Y, Shigetani Y, Yoshiba K, Yoshiba N, Okiji T. Immunohistochemical analysis of subcutaneous tissue reactions to methacrylate resin-based root canal sealers. International Endodontic Journal, 44(7), 669-75, 2011. (査読有り)
- [学会発表] (計 10 件)
1. Ohkura N, Shigetani Y, Yoshiba N, Yoshiba K, Okiji T: Multidrug resistance-associated protein 4-mediated prostaglandin E2-transport in inflamed dental pulp. 91st General Session & Exhibition of the International Association for Dental Research (IADR), Seattle, WA, USA, March 21, 2013.
 2. Takei E, Shigetani Y, Yoshiba K, Hinata G, Yoshiba N, Okiji T. Distributional changes of macrophage-subpopulations in rat molars pulp-capped with MTA. 91st General Session & Exhibition of the International Association for Dental Research (IADR), Seattle, WA, USA, March 21, 2013.
 3. Yoshiba K, Shigetani Y, Yamanaka Y, Takei E, Yoshiba N, Okiji T: Ultrastructural and compositional changes of MTA implanted in connective tissue. 91st General Session & Exhibition of the International Association for Dental Research (IADR), Seattle, WA, USA, March 21, 2013.
 4. Yoshiba K, Shigetani Y, Yamanaka Y, Takei E, Yoshiba N, Okiji T: Morphological and compositional changes of MTA implanted in rat connective tissue. Japan-China Dental Conference 2012, 成都, 中国, April 26-27, 2012.
 5. Hinata G, Shigetani Y, Yoshiba K, Okiji T:

- Canal-shaping ability of a Ni-Ti instrument for single-file reciprocating technique. 60th Annual Meeting of JADR, Niigata, December 14-15, 2012: Program and abstracts: p.100, 2012.
6. 武井絵梨花, 重谷佳見, 吉羽邦彦, 日向剛, 吉羽永子, 興地隆史: ラット臼歯における Mineral Trioxide Aggregate による直接覆髄後のマクロファージ系細胞の動態解析. 日本歯科保存学会 2012 年度春季学術大会(第 136 回), 2012 年 6 月 28-29 日, 沖縄, プログラムおよび講演抄録集: 119 頁, 2012.
7. 重谷佳見, 大倉直人, 細矢明宏, 鈴木啓展, 吉羽邦彦, 吉羽永子, 大島勇人, 興地隆史: 半導体レーザー照射後のラット臼歯における硬組織形成誘導機構の解明. 第 22 回日本歯科医学会総会, 大阪, 2012 年 11 月 9-11 日, プログラム・事前抄録集: 109, 2012.
8. Yoshiba K, Shigetani Y, Yamanaka Y, Takei E, Yoshiba N, Okiji T: Compositional changes of mineral trioxide aggregate subcutaneously implanted in rats. 59th Annual Meeting of Japanese Association of Dental Research, Hiroshima, October 8, 2011, Program and Abstracts of Papers: p. 71, 2011.
9. 重谷佳見, 鞍立桃子, 吉羽邦彦, 吉羽永子, 山中裕介, 興地隆史: ラット臼歯における水酸化カルシウムによる直接覆髄後の被蓋硬組織形成過程に関する免疫組織化学的研究. 日本歯科保存学会 2011 年秋季学術大会(第 135 回), 大阪, 2011 年 10 月 20 日, 日歯保存誌, プログラムおよび講演抄録集: 106 頁, 2011.
10. 吉羽邦彦, 重谷佳見, 山中裕介, 武井絵梨花, 吉羽永子, 興地隆史: Mineral Trioxide Aggregate の生体内組成変化: ラット皮下移植による検討. 日本歯科

保存学会 2011 年度秋季学術大会(第 135 回), 大阪, 2011 年 10 月 20 日. プログラムおよび講演抄録集: 120 頁, 2011.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

重谷 佳見 (SHIGETANI YOSHIMI)
新潟大学・医歯学系・助教
研究者番号: 80397132

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: