

ふ り が な 氏 名	いその はるみ 磯野 治実
学 位 の 種 類	博士（歯学）
学 位 記 番 号	甲 第 1016 号
学位授与の日付	令和 7 年 3 月 7 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項に該当
学 位 論 文 題 目	Effect of a Novel Calcium Carbonate-based Hypersensitivity Suppression Material on Integrin $\alpha_v\beta_3$ Expression in Human Deciduous Dental Pulp-derived Fibroblasts (炭酸カルシウム系新規知覚過敏抑制材料がヒト乳歯歯髓由来線維芽細胞の integrin $\alpha_v\beta_3$ 発現に与える影響)
学 位 論 文 掲 載 誌	Journal of Oral Tissue Engineering 第 22 巻 第 1 号 令和 6 年 9 月 30 日
論 文 調 査 委 員	主 査 富永 和也 教授 副 査 山本 一世 教授 副 査 前田 博史 教授

## 論文内容要旨

象牙質知覚過敏症は歯科臨床では頻出する疾患である。象牙質知覚過敏症を患う機会は高齢であるほど多くなる傾向にあり、同時に歯質の楔状欠損を伴っていることが多い。象牙質知覚過敏症の治療を目的とする歯科材料には高分子材料、リン酸カルシウムおよび乳酸アルミニウムなどの物質を用いたものが存在する。歯質の楔状欠損部位では歯質の幅が狭くなるので、歯髓腔内に存在する細胞と外界との距離が短くなったり、歯髓細胞の露出を引き起こすことが考えられ、治療に使われる歯科材料によっては歯髓炎を惹起させる可能性が懸念される。そこで、覆髓材として使用されているカルシウム製剤のうち、炭酸カルシウムを主成分とした新規材料に着目した。カルシウムは、歯に含まれるミネラルの一種であり、生体内のシグナル伝達や細胞の分化に関わっており、細胞接着分子であるインテグリンに結合する物質の一つでもある。インテグリンには約 24 種類のタイプが存在し、これらのうち  $\alpha_v\beta_3$  は創傷治癒過程に発現する。そこで、本研究では、新規歯科用知覚過敏抑制材料を含有する培地でヒト乳歯歯髓由来線維芽細胞を培養し、新規材料を含有しない培地で培養したものを対照群とした。それぞれの細胞増殖、カルシウムの動態およびインテグリン  $\alpha_v\beta_3$  の発現に与える影響について明らかにすることを目的とし、細胞増殖を WST アッセイにて測定し、カルシウムの動態をアリザリンレッド S による染色、インテグリン  $\alpha_v\beta_3$  の発現を蛍光標識抗体によって検出し、後二者は共焦点走査型レーザー顕微鏡を用いて観察した。それぞれ培養期間は前者を 1 と 7 日間、後二者を 4 と 7 日間とした。

細胞増殖試験では、培養 1 日目の実験群は対照群に比べて細胞数が増加していた。また、培養 7 日

目では対照群と実験群との細胞数に有意差を認めなかった。共焦点走査型レーザー顕微鏡による観察では、対照群と実験群の細胞形態はいずれも卵円形および紡錘形であった。いずれの培養期間でも実験群の細胞質内に相当する部位にアリザリンレッド S で染色された材料由来のカルシウムが局在していた。また、対照群と実験群のいずれにおいてもインテグリン  $\alpha_v\beta_3$  の発現が観察され、実験群の一部では材料のカルシウムと重なって観察された。以上から、新規歯科用知覚過敏抑制材料由来のカルシウムは細胞内に取り込まれ、培養初期に細胞増殖を促進させ、さらにインテグリン  $\alpha_v\beta_3$  の成分として利用される可能性が示された。

## 論文審査結果要旨

超高齢社会を迎えている日本において象牙質知覚過敏症は増加傾向にある。象牙質知覚過敏症の治療用歯科材料として、高分子材料、リン酸カルシウムおよび乳酸アルミニウムなどの物質を用いたものが挙げられる。象牙質知覚過敏症では、歯質の楔状欠損を伴っていることが多く、楔状欠損を起こすと歯髄と外界（口腔）との歯質の距離が短くなり、場合によっては歯髄の露出を引き起こすことを想定しておく必要がある。そのため、より良い象牙質知覚過敏症抑制材には、生体適合性や生体親和性といった性質、性能が求められる。本研究で使用した材料は炭酸カルシウムを主成分としており、リン酸供給液を添加すると、歯面上でリン酸カルシウムを合成することができる新しい象牙質知覚過敏症抑制材 (DI) である。楔状欠損をもった象牙質知覚過敏症に対して DI を用いることを想定し、*in vitro* 実験でヒト歯根膜線維芽細胞、ヒト歯肉線維芽細胞およびヒト骨芽細胞への影響を観察し、ウシ歯を用いた *in vivo* 実験で象牙細管の封鎖性を観察した先行研究を実施しており、DI が、細胞増殖を促進させる能力を備え、生体親和性があり、象牙細管の封鎖性が高い新規材料であることをすでに示している。

本研究では、DI が歯髄細胞（ヒト乳歯歯髄由来の線維芽細胞）に与える影響を観察している。すなわち、DI を含有する培地でヒト乳歯歯髄由来線維芽細胞を培養し、DI を含有しない培地で培養したものを対照群とした。それぞれの細胞増殖、カルシウムの動態およびインテグリン  $\alpha_v\beta_3$  の発現に与える影響について明らかにしている。すなわち、細胞増殖を WST assay で測定し、カルシウムの動態をアリザリンレッド S によって材料のカルシウムを事前に染色しておく方法を用い、インテグリン  $\alpha_v\beta_3$  の発現を蛍光標識抗体によって検出し、後二者については共焦点走査型レーザー顕微鏡を用いて観察している。その結果、細胞増殖試験では、培養 1 日目の実験群は対照群に比べて細胞数が増加していた。一方、培養 7 日目では対照群と実験群との細胞数に有意差はみられなかった。共焦点走査型レーザー顕微鏡による観察では、対照群と実験群との細胞形態はいずれも卵円形および紡錘形であり、いずれの培養期間でも実験群の細胞質内に相当する部位にアリザリンレッド S で染色された材料由来のカルシウムが局在していた。また、対照群と実験群のいずれにおいてもインテグリン  $\alpha_v\beta_3$  の発現が観察され、実験群の一部では材料のカルシウムの局在部位と重なって観察された。

以上、DI に含有されているカルシウムが、ヒト乳歯歯髄由来の線維芽細胞に取り込まれ、培養の初期には細胞増殖を促進させ、インテグリン  $\alpha_v\beta_3$  の成分として利用されている可能性を証明した点において、本論文は博士（歯学）の学位を授与するに値すると判定した。