

Title	Influences of the antibacterial monomer MDPB on the proliferation, defferentiation and mineralization of odontoblast-like cells
Author(s)	西田, 万里子
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49764
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	にしだまりこ 西田万里子
博士の専攻分野の名称	博士(歯学)
学位記番号	第22858号
学位授与年月日	平成21年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 歯学研究科分子病態口腔科学専攻
学位論文名	Influences of the antibacterial monomer MDPB on the proliferation, defferentiation and mineralization of odontoblast-like cells (抗菌性モノマーMDPBが象牙芽細胞様細胞の増殖、分化ならびに石灰化に及ぼす影響)
論文審査委員	(主査) 教授 恵比須繁之 (副査) 教授 森崎市治郎 准教授 中村 隆志 准教授 寺岡 文雄

論文内容の要旨

【研究目的】

抗菌性モノマー12-methacryloyloxydodecylpyridinium bromide (MDPB)を配合した象牙質プライマーは、う蝕関連細菌に対して強い殺菌作用を示すことから、本プライマーを組み込んだ接着システムを用いて直接覆髄処置を行えば、う蝕除去の際に生じた露髄においても歯髄保存の可能性が高まるものと推測される。しかし、接着システムによる直接覆髄では、一般的に、レジンモノマーの刺激によって歯髄の炎症が遷延化し、硬組織形成が遅れる傾向にあることが報告されており、MDPBが歯髄の治癒に及ぼす影響についても十分に検討する必要がある。MDPBの細胞への影響については、これまで、歯髄線維芽細胞を用いた毒性試験が行われているが、硬組織形成を担う象牙芽細胞の活性や機能に対する影響に関しては検討がなされていない。そこで本研究では、象牙芽細胞様細胞 MDPC-23を用いて、MDPBがその増殖、分化ならびに石灰化に及ぼす影響を接着システムに頻用される他のレジンモノマーと比較検討し、さらに、MDPB含有プライマーのMDPC-23細胞の増殖に対する影響について評価することを目的とした。

【材料および方法】

1. 各種モノマーが象牙芽細胞様細胞の増殖、分化ならびに石灰化に及ぼす影響

48 well プレートに、マウス象牙芽細胞様細胞 MDPC-23 を 1×10^4 cells/well の濃度で播種し、10%FBS 添加 α -MEM 培地を用いて 37℃、5%CO₂ 下で 24 時間培養後、MDPB (0.5

～1000 µg/mL)または4種のレジンモノマー (0.5～1000 µg/mL の HEMA, TEGDMA, 0.5～500 µg/mL の Bis-GMA, MDP)を添加した分化誘導培地にて3日間培養を行った。その後、モノマー非添加の分化誘導培地に交換して培養を継続し、所定の期間培養後に、各モノマーの増殖、分化ならびに石灰化への影響を以下の方法にて評価した。

- 1) 増殖への影響：3日間培養後、細胞の形態と増殖状態を位相差顕微鏡にて観察するとともに、MTT assayにより細胞増殖を評価した。
- 2) 分化への影響：3または7日間培養後、Alkaline phosphatase (ALP)の発現を酵素抗体染色法にて評価した。また、ALP, Nestin, Osteocalcin (OCN), Dentin sialophosphoprotein (DSPP)のmRNA発現量を、3～14日間培養後にリアルタイムPCR法にて測定した。
- 3) 石灰化への影響：3～21日間培養後、アリザリンレッドによる染色と比色定量法によるCa量の測定を行い、石灰化物形成を評価した。また、形成された石灰化物の結晶性をmicro XRDにより分析した。

2. MDPB 配合プライマーが象牙芽細胞様細胞の増殖に及ぼす影響

MDPC-23細胞を、HEMAベースのClearfil SE Bond プライマー (SE)、HEMAベースで5%MDPBを含有するClearfil Protect Bond プライマー (PB)、あるいはBis-GMAベースのアドヒーズであるClearfil Tris-S Bond (S3)を1、10または20%の濃度で添加した培地で24時間培養後、MTT assayにて細胞増殖を評価した。また、各材料を添加した培地のpHを、添加直後および37℃、5%CO₂下で24時間保管後に測定し、酸性度を評価した。

【結果】

1. 各種モノマーが象牙芽細胞様細胞の増殖、分化ならびに石灰化に及ぼす影響

- 1) 顕微鏡観察およびMTT assayのいずれにおいても、Bis-GMA < MDPB < TEGDMA < MDP < HEMAの順に、より低濃度で細胞増殖の有意な抑制が認められ、疎水性の高いモノマーほど増殖阻害が強かった。
- 2) 染色法では、いずれのモノマーでも、一定濃度以上でALPの発現の完全な抑制が認められ、レジンモノマーの分化への影響は増殖に対する阻害よりも大きかった。MDPBによる分化マーカーのmRNAの発現抑制は、7日目までは5種のモノマー中で最も大きかったが、14日目ではBis-GMAやMDPと同等か、より小さくなった。
- 3) いずれのモノマーでも、一定濃度以上で石灰化物の形成が抑制されたが、Bis-GMAおよびMDPでは、MDPBよりも影響が大きかった。また、MDPでは、アパタイト様結晶の生成が強く阻害された。

2. MDPB 配合プライマーが象牙芽細胞様細胞の増殖に及ぼす影響

いずれのプライマー/アドヒーズにおいても、すべての濃度で増殖の抑制が認められたが、10%以下の濃度では、S3による抑制がSE, PBよりも有意に強く、SEとMDPBを含有するPBの間に有意差は認められなかった。また、S3は、SE, PBよりもやや高いpH値を示し、酸性度は他の二種よりも低かった。

【考察および結論】

レジンモノマーの象牙芽細胞様細胞の増殖に対する影響は、全般的に、化学構造に基づく疎水性に依存し、疎水性が高いほど抑制が強いことが分かった。MDPBは、象牙芽細胞様細胞の増殖に対してはBis-GMAよりも影響が小さく、また、分化に対しては他のモノマーよりもやや強い抑制を示すものの、石灰化に対する阻害作用はBis-GMAおよびMDPよりも小さいことが明らかとなった。さらに、組成物としてのプライマー/アドヒーズによる象牙芽細胞様細胞の増殖に対する影響は、主にベースモノマーに依存しており、5%のMDPBの添加は増殖抑制作用を増強しないことが確認された。以上のことより、MDPBは、象牙芽細胞様細胞への影響という点でBis-GMAよりも生体親和性の高いモノマーであり、MDPB含有接着システムをう蝕除去によって生じた露髄に対する直接覆髄処置に応用した場合、従来の接着システムよりも良好な成績が得られる可能性のあることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、抗菌性モノマーMDPBが、象牙芽細胞様細胞の増殖、分化ならびに石灰化に及ぼす影響について*in vitro*系にて詳細に検索したものである。

その結果、MDPBの象牙芽細胞様細胞の増殖と機能に対する阻害作用は、種々の修復材料に頻用されるBis-GMAよりも小さいことが分かった。また、象牙質プライマーへのMDPBの低濃度の配合は、象牙芽細胞様細胞の増殖に悪影響を及ぼさないことが明らかとなった。

以上の研究成果は、MDPBの象牙芽細胞に対する生体親和性を明らかにしたことにより、本モノマーを配合した抗菌性接着システムの直接覆髄法への応用の可能性を示すものであり、本研究は博士(歯学)の学位授与に値するものと認める。