

エナメル質再生法の開発 とアメロゲニンペプチド創薬の探索

広島大学病院・口腔健康発育歯科・歯科矯正学
講師 國松 亮

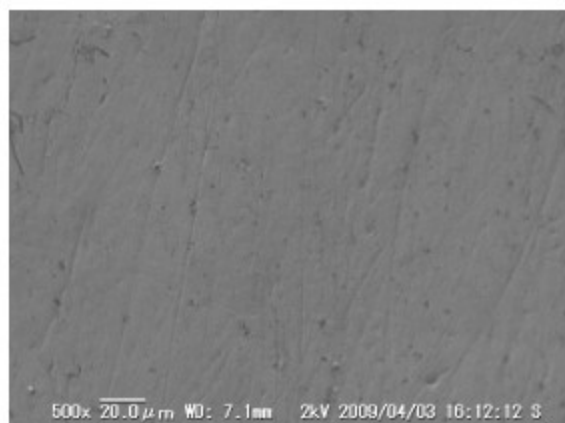
2019 年 9 月 19 日

初期むし歯(CO)とは？



むし歯の穴は空いていないが、歯の表面が白濁

SEM画像（当科にて撮影）



正常なエナメル質



COのエナメル質

初期むし歯(CO)とは、むし歯の初期状態のことであり、むし歯の穴は空いていないが、歯の表面が白く濁ったように見えるのが特徴。エナメル質表面に無数の傷がついている状態なので、放置しておくともし歯が急速に進行してしまう。そうなると、歯の表面に穴が空いてしまい、人工物による修復治療が不可欠になる。

新技術の基となる研究成果・技術

再石灰化とは？

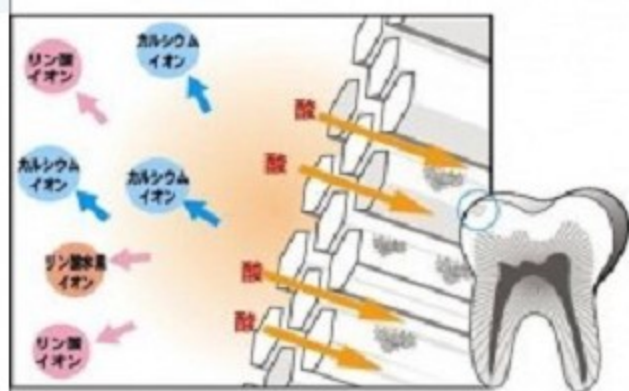


カルシウムイオン リン酸イオン

再石灰化



脱灰 ハイドロキシアパタイト



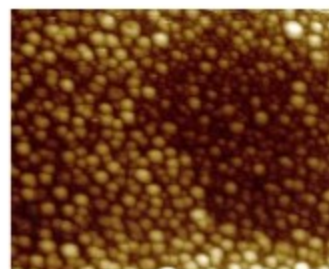
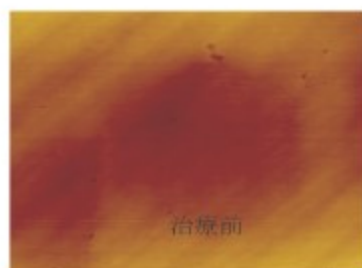
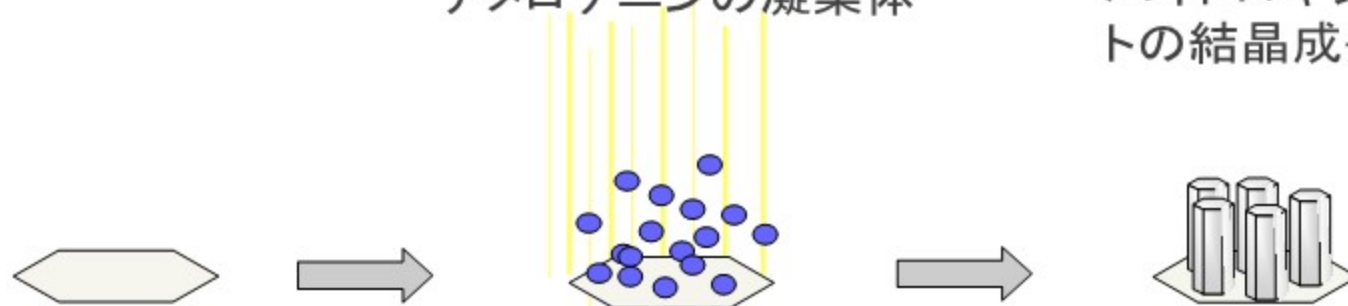
エナメル質表面

1. 再石灰化は、生体に備わった機能ではあるが、環境要因に大きく左右され、いつも生じるわけではない(だからむし歯になる)。
2. これまでに、再石灰化を直接的に誘導する治療法はない。

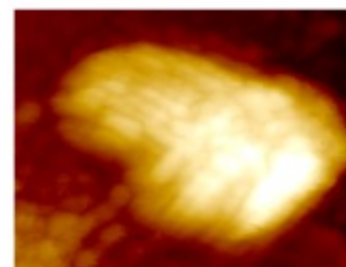
エナメル蛋白アメロゲニンを用いたバイオミネラリゼーション治療

アメロゲニンの凝集体

ハイドロキシアパタイトの結晶成長



原子間力顕微鏡 (AFM) 像



アメロゲニンによって誘導されたハイドロキシアパタイト結晶

生体において、歯の形成期に行われている過程を模倣することにより、エナメル質の修復を行うことを特徴とする。

アメロゲニンとは？

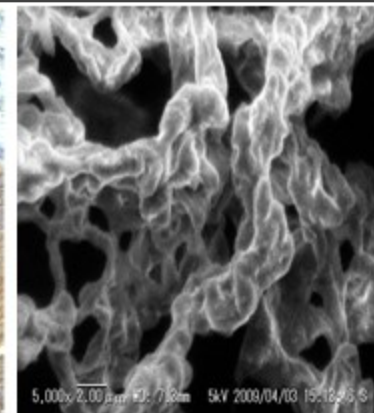
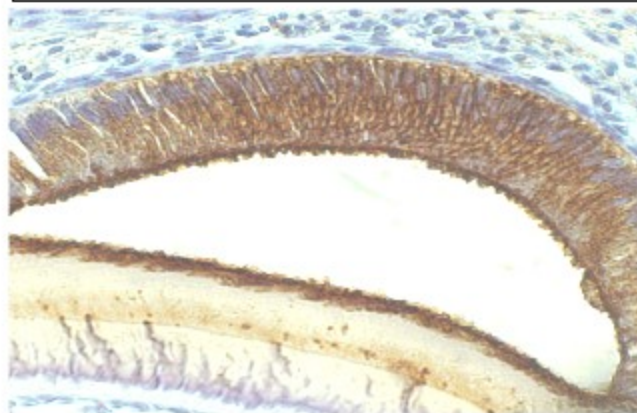
生体の歯の形成期に分泌される重要なエナメル蛋白。エナメル質の主成分であるハイドロキシアパタイトの結晶を誘導する機能がある。



1日齢マウス歯胚のアメロゲニン (当科撮影)

エナメル蛋白

アメロゲニン90%~ アメロブラスチン 5%
エナメルリン
シースリン

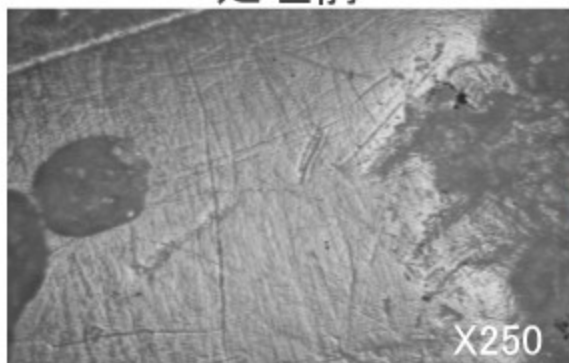


精製したヒトアメロゲニンのSEM像 (当科にて撮影)

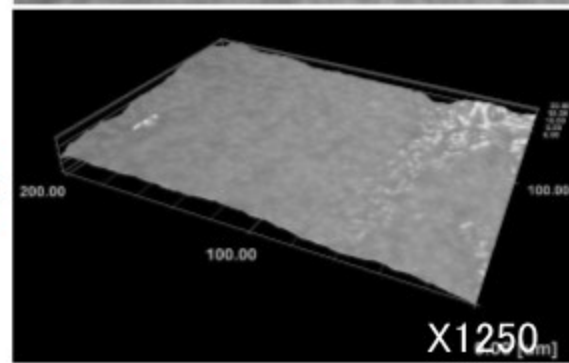
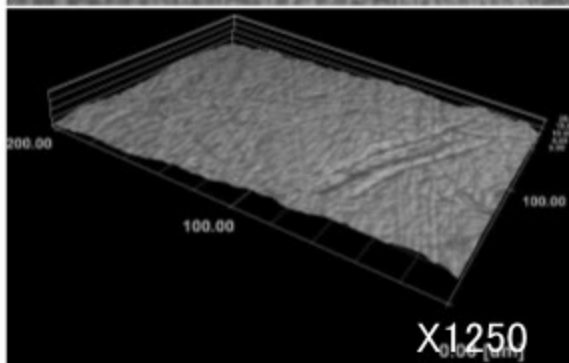
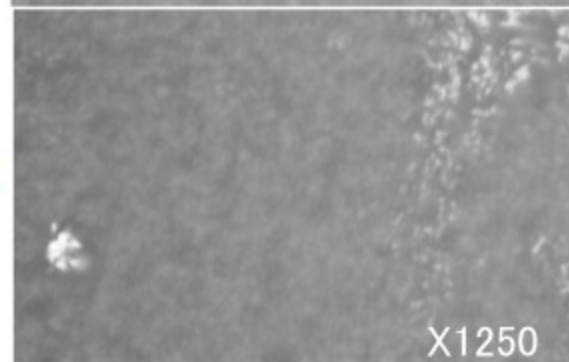
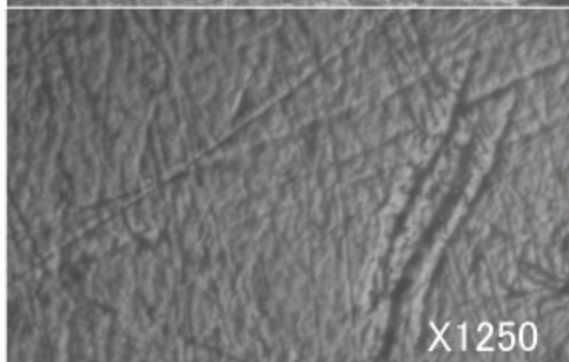
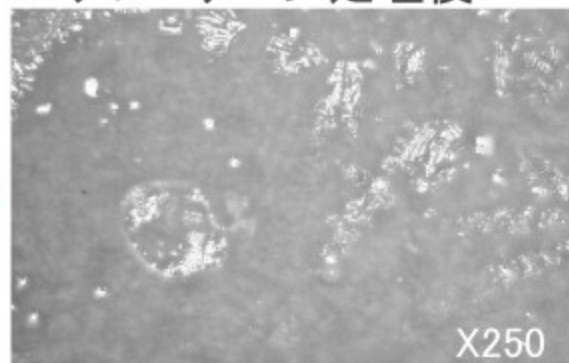
我々の実験結果

実体顕微鏡による評価

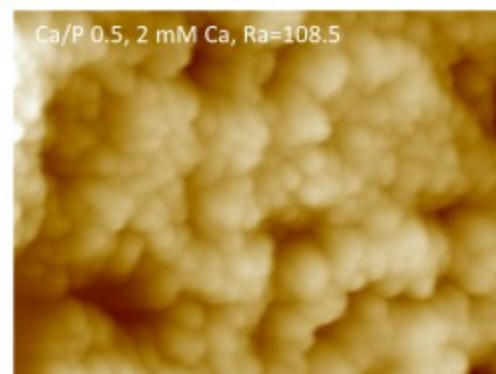
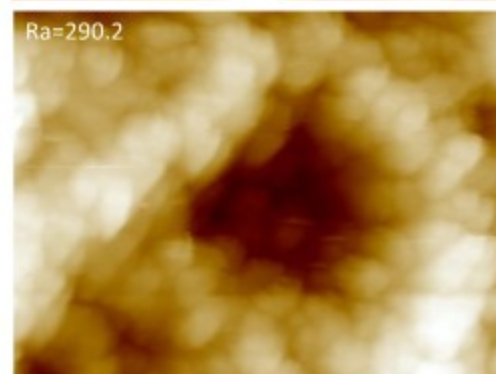
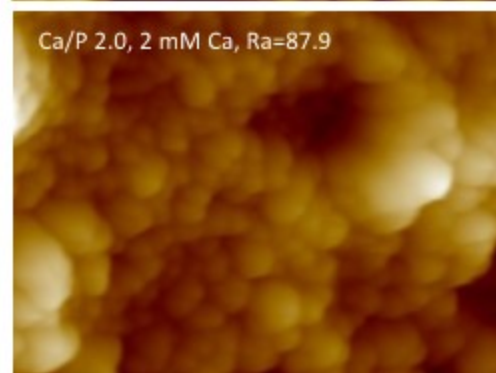
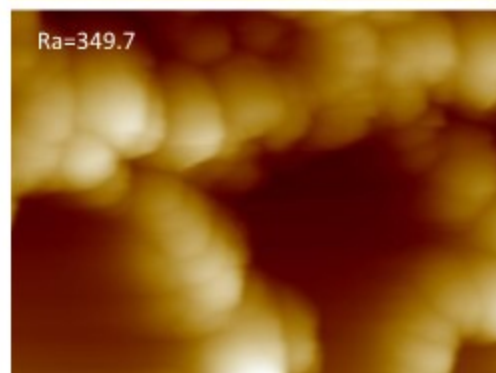
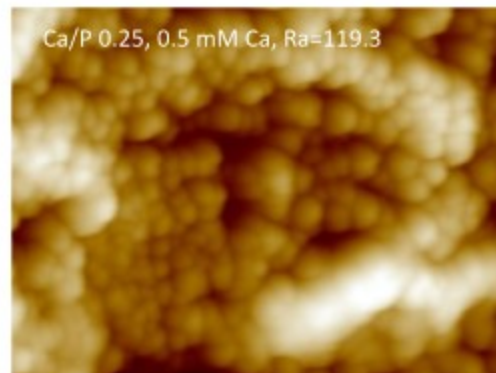
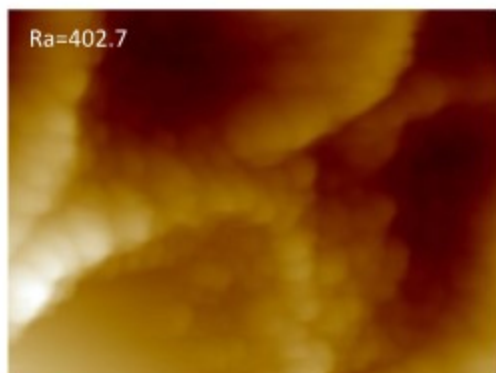
処理前



アメロゲニン処理後

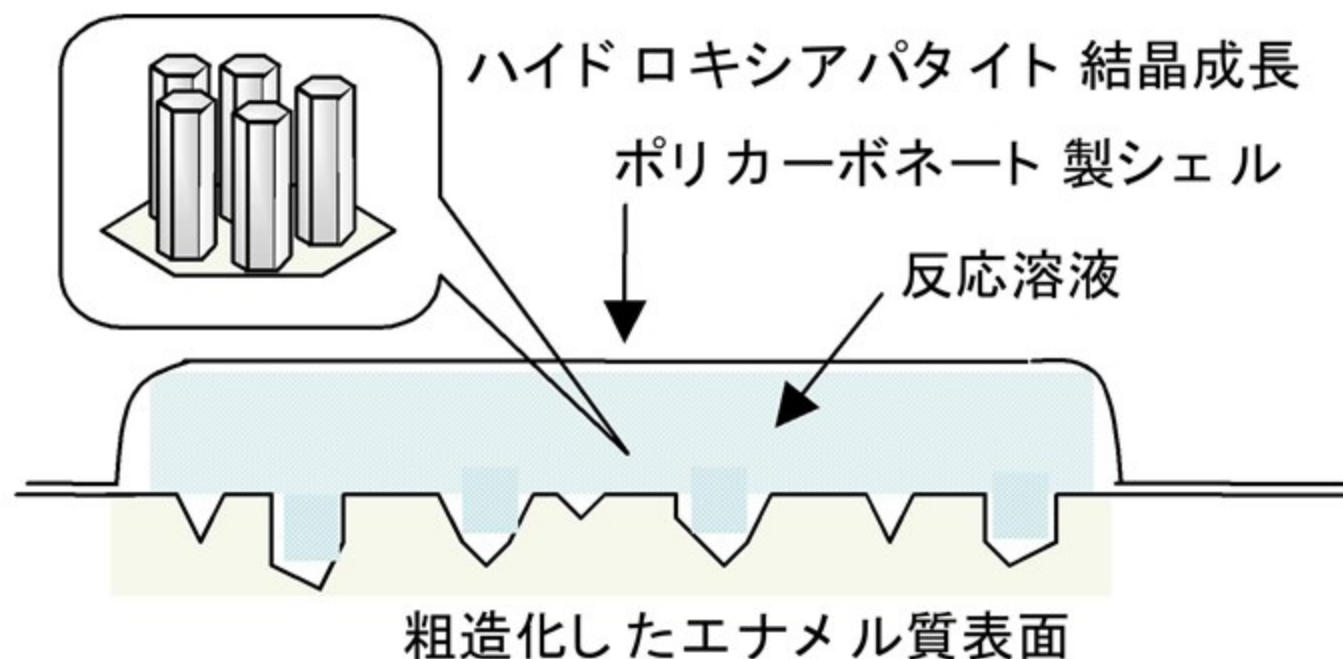


原子間力顕微鏡による評価



薬液保持および塗布歯面保護のための方法

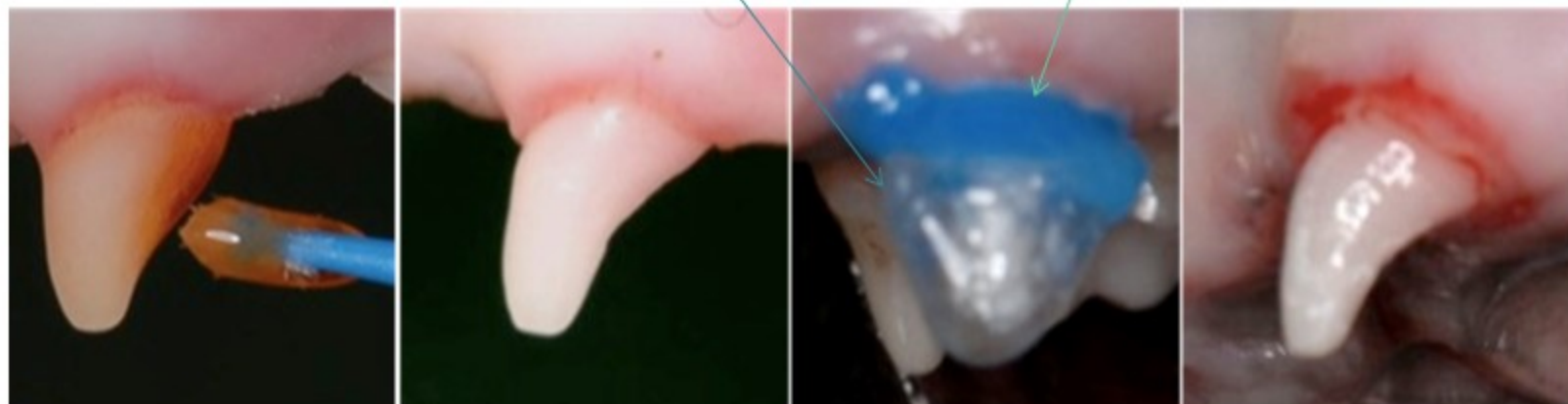
シェルを用いた方法



ポリカーボネート製シェル

辺縁封鎖用接着剤

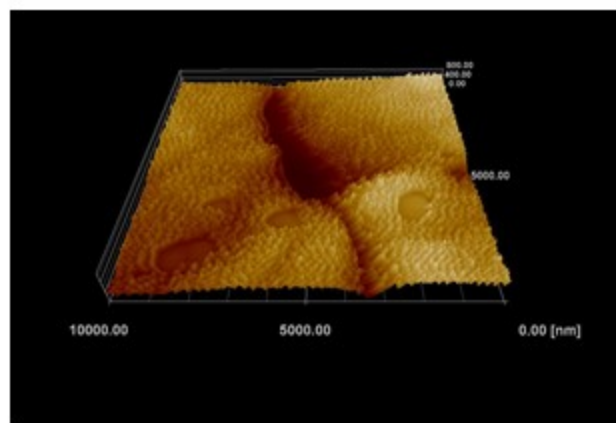
新技術説明会
New Technology Presentation Meetings!



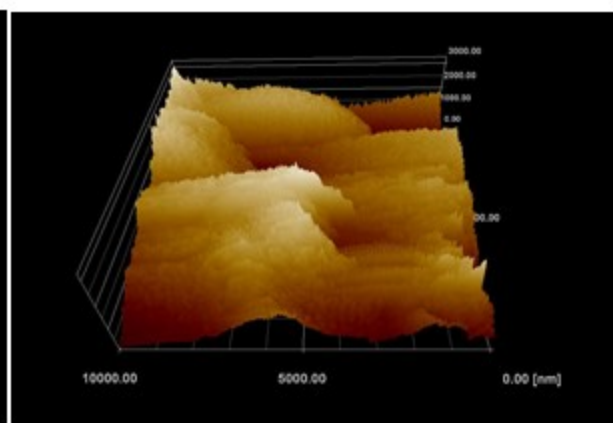
治療前
(酸処理)

治療中

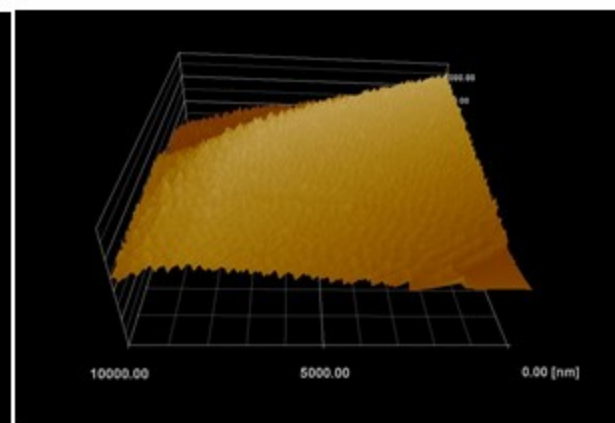
治療後
(16時間処置)



天然のエナメル質
表面



酸処理したエナメル質
表面



バイオミネラルリゼー
ション治療により再生
したエナメル質表面

臨床応用

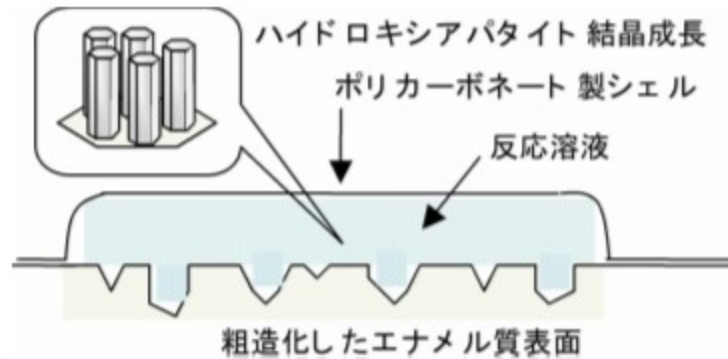


図3 薬液保持および塗布歯面保護のための方法

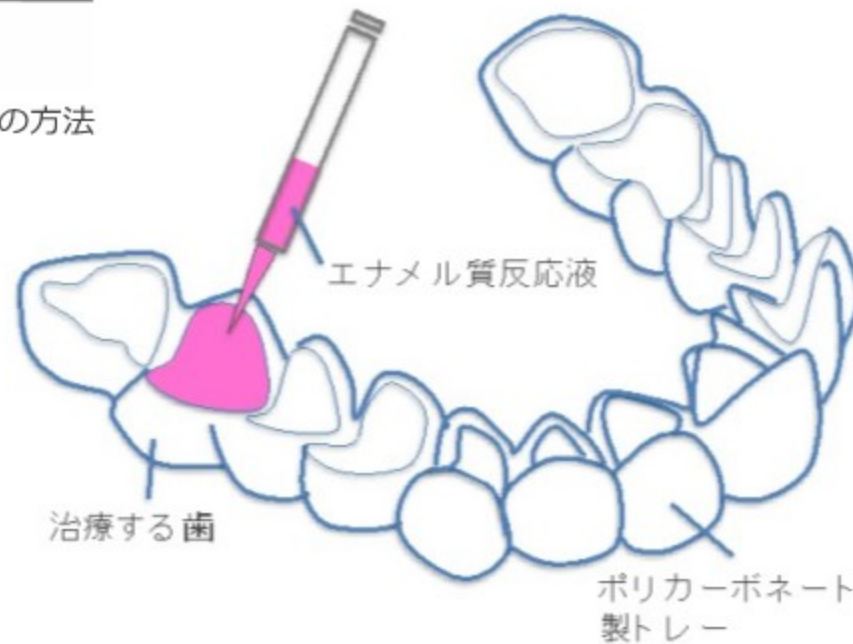


図5 エナメル質反応液の保持用トレイと薬液注入法のイメージ図

アメロゲニンの活性部位の探索

N末端側

ヒト完全長アメロゲニン
174 個のアミノ酸

C末端側

TRAP



MMP-20 酵素による加水分解

rh128 (TRAPを含まない)

46個のアミノ酸

128個のアミノ酸

rh163 (C末端)

163 個のアミノ酸

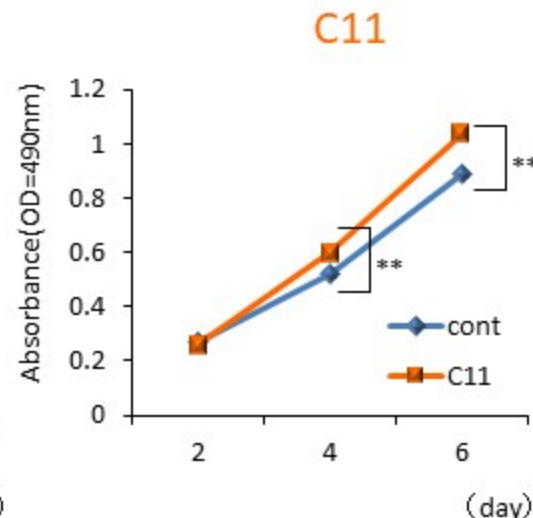
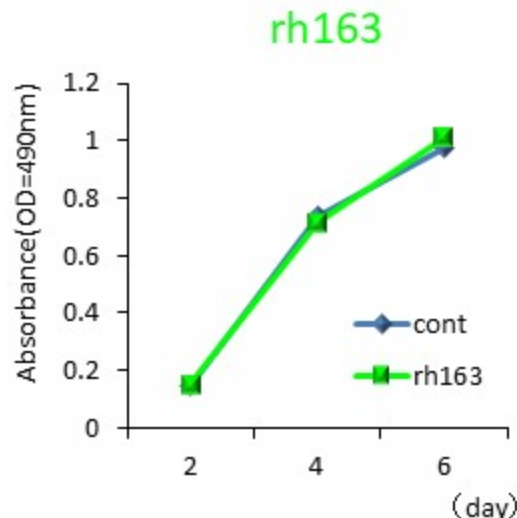
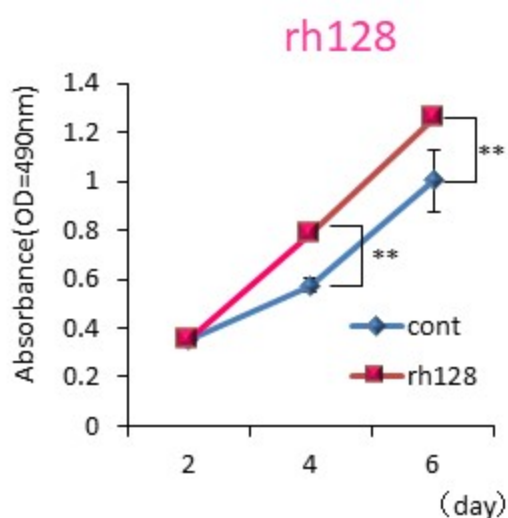
C11ペプチド

11個のアミノ酸

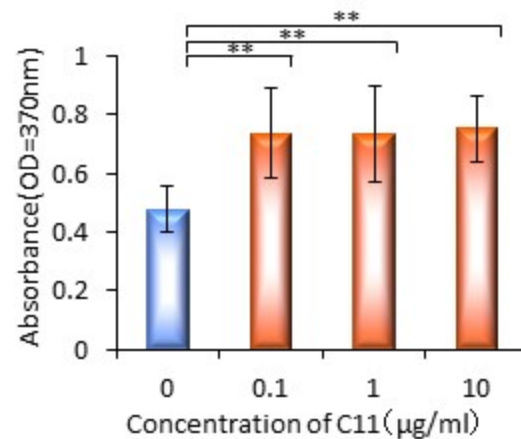
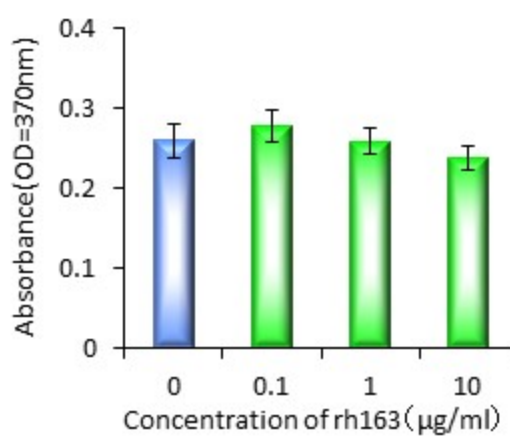
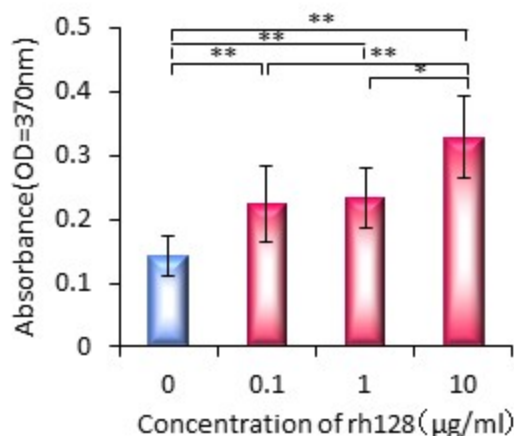
アメロゲニンの変異体タンパク質について

アメロゲニンの活性部位の探索 (細胞増殖に及ぼす影響)

BrdU
assay
(ELISA)



MTS
assay



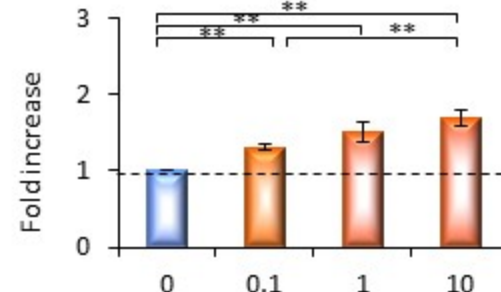
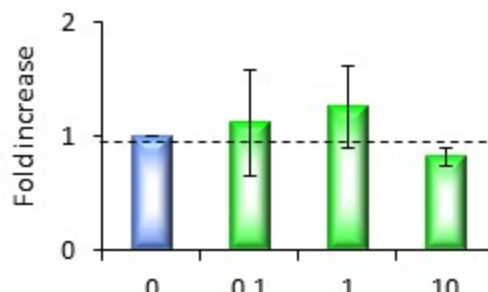
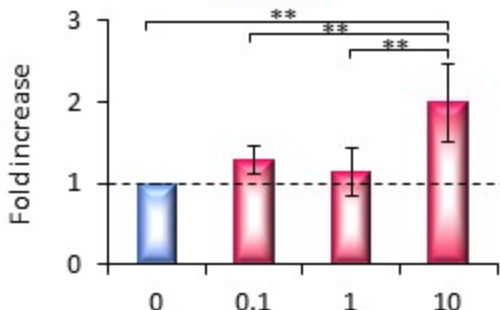
アメロゲニンの活性部位の探索 (骨関連遺伝子マーカーに及ぼす影響)

rh128

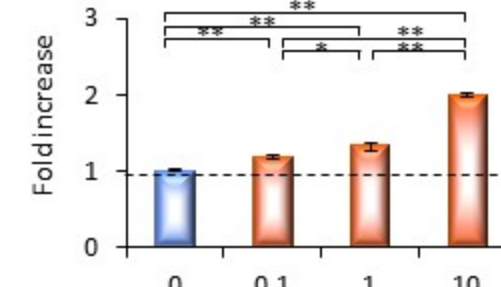
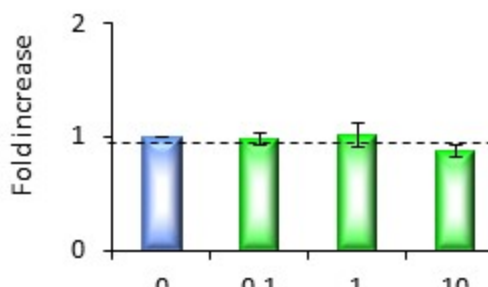
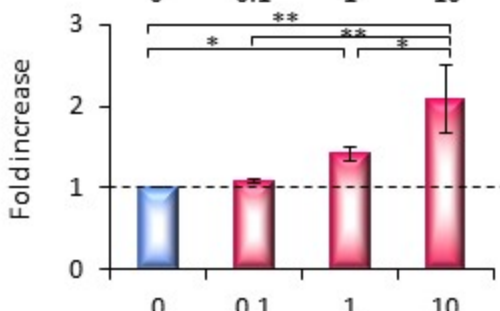
rh163

C11

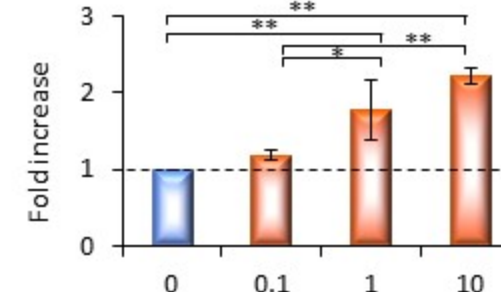
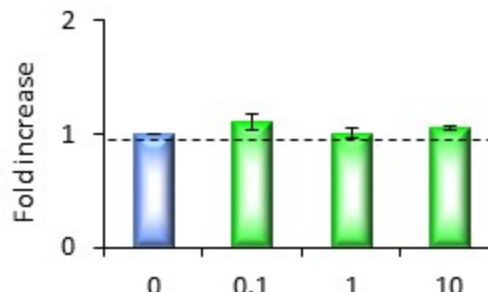
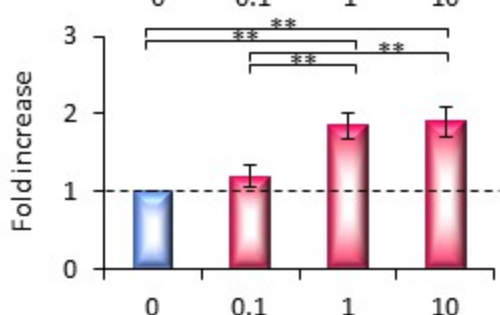
ALP



OCN



BSP

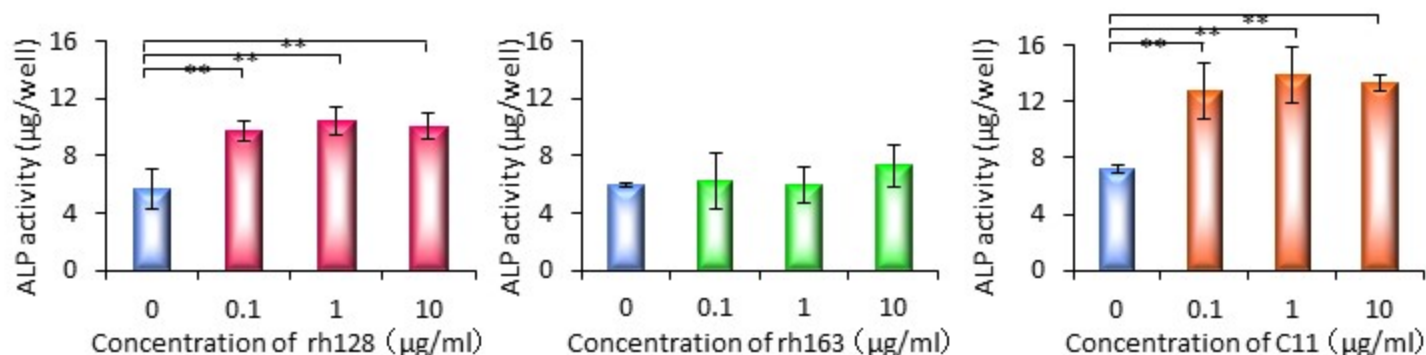


Abscissa axes are concentration of each amelogenin variants(μg/ml)

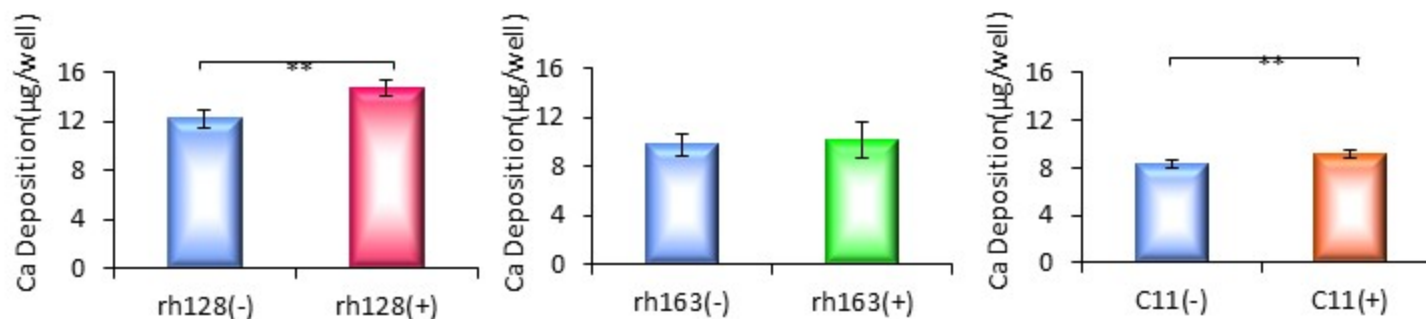
*p<0.05 **p<0.01

アモロゲニンの活性部位の探索 (骨分化に及ぼす影響)

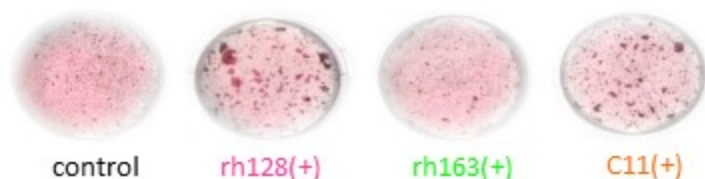
ALP定量



Ca定量



ALZ染色



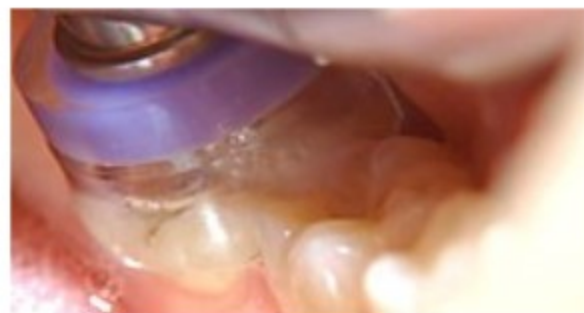
従来技術との比較

1) 除菌を目的とした治療法

ブラッシング

PMTTC (professional mechanical tooth cleaning)-バイオフィルムの除去

オゾンによる殺菌 (HealOzone)



本治療法とも併用可能であるが、エナメル質再生を促す効果はない。

従来技術との比較

2) イオンの供給を目的とした治療法

フッ化物塗布

MIペースト(CPP-ACP)



フッ素塗布には、エナメル質を直接再生させる効果はなく、過剰摂取による副作用への懸念が根強い。
また、カルシウムやリン酸イオンを供給する食品や歯磨剤の効果は、口腔内環境に左右されやすい。

エナメル蛋白の組織再生作用と臨床応用

- ブタの未萌出歯胚の幼若エナメル質より酸性下の条件で抽出され、それを凍結乾燥したものが、歯周組織再生治療法として臨床応用されている。
- しかしながら、ブタ由来であることより、**安全性が問題である。**



新技術の特徴・従来技術との比較

「削って詰める」から「再生する」治療への転換

- 従来技術では、エナメル質を確実に再生することが困難であったが、アメロゲニンを用いることにより、解決した。
- 従来は唾液性状などの口腔環境に左右されやすかったが、専用トレーを用いる方法を採用することにより、解決した。
- 細胞を用いて歯を再生させる方法などに比較して低コスト。

新技術の特徴・従来技術との比較

アメロゲニン親水性ペプチドを応用したペプチド創薬

- 従来型技術のブタの幼若エナメル蛋白抽出物であるエムドゲイン®が製品化され、組織再生療法の一つとして臨床応用されている。しかしながら、動物由来蛋白を用いていることから抗原性や品質の安定性は定かではない。
- 本技術は、ヒトのアミノ酸配列を参考に活性部位をペプチドとして工業的に精製するため、**安全性が高く、大量生産が可能**と考えます。

想定される用途

- これまで困難であったエナメル質の効率の良い再生を可能とするまったく新しい治療法である。
- むし歯が初期段階のうちに本治療を施すことにより、歯を元通りに再生し、大きなむし歯への移行を効果的に予防できる。
- また、審美性に優れた治療法であり、審美治療として発展することも期待される。

想定される業界

- 利用者・対象

全国の歯科医院

- 市場規模

満5歳から17歳までの約64%(1088万人)がむし歯の有病者：未処置のむし歯の有病率は約半数(若年者全体の29.9%,508万人)：若年者一人あたりの平均むし歯数は2.43本:さらに本治療法の対象となるむし歯はその約37%程度(若年者全体の約11.1%, 189万人)と想定

→229.5億円の市場規模

実用化に向けた課題

- 現在、**ビーグル犬実験モデル**について**エナメル質再生**が可能なところまで開発済み。しかし、**生体に対する安全性**の点が未解決である。
- 今後、病院にて臨床治験データを取得し、ヒトに適用していく場合の条件設定を行っていく。
- 実用化に向けて、**アメロゲニンの大量製造技術**を確立する必要もあり。

本技術に関する知的財産権 1

- 発明の名称 : エナメル質再生キット
- 登録番号 : 5757612
- 出願人 : 国立大学法人広島大学
- 発明者 : 谷本 幸太郎、丹根 一夫、
國松 亮、神谷 貴志

本技術に関する知的財産権 2

- 発明の名称: ヒトアメロゲニン部分ペプチド
- 登録番号 : 6134146
- 出願人 : 国立大学法人広島大学
- 発明者 : 谷本 幸太郎、丹根 一夫、
國松 亮、吉見 友希

お問い合わせ先

広島大学

産学・地域連携センター 産学連携部門

産学官連携コーディネーター・川崎博和

T E L 082-257-5427

F A X 082-257-1567

e-mail hirokwsk@hiroshima-u.ac.jp