

明 細 書

発明の名称：

非細胞性根管充填材および非細胞性歯組織再生促進キット

技術分野

[0001] 本発明は、歯髄、象牙質および根尖歯周組織の再生を促進する、幹細胞あるいは幹細胞成分を用いない、非細胞性根管充填材および非細胞性歯組織再生促進キットに関する。

背景技術

[0002] 超高齢化社会において、歯が健康でしっかり噛めることは健康長寿のために重要である。しかしながら、中高齢者では、すでに歯の神経を除去（抜髄）した歯が数十年後に再感染して根の下に膿が溜まる病気（感染根管）に陥っている場合が20%を超え、さらに、その約25%は治療を受けてもなかなか完治できない。そのような慢性的な感染病巣が免疫力の低下した高齢者の全身に与える影響は大きい。骨粗鬆症治療薬服用中の高齢者では抜歯できない場合も多い。また、抜歯してもインプラントを適用できる症例は中高齢者では減少する。

[0003] 一方、歯喪失は、咬合・発音・味覚・触覚・審美性の低下や、QOLの低下を招く。最近では、歯や口腔機能低下によるオーラル・フレイルが、低筋力や低身体機能等のサルコペニアや低栄養等による生活機能の低下を招き、ひいては中高齢者が要介護状態に陥ることが懸念されている。

[0004] 従って、歯および口腔機能の維持のために、自己の不用歯から分取した歯髄幹細胞を自家移植して、あるいは他者の不用歯から分取した歯髄幹細胞を同種移植して、抜髄しても感染根管・抜歯に至らないように歯を元通りに回復させる歯髄再生治療法が開発されている（特許文献1～3）。また、歯髄幹細胞のみならず、骨髓や脂肪由来の他の組織幹細胞を自家あるいは同種移植しても歯髄は再生されるが、歯髄幹細胞移植に比べると、歯髄再生量、血管新生量、神経再生量が劣る（特許文献4）。すでに自家歯髄幹細胞移植に

よる歯髄再生治療法は臨床研究により安全性が確認され、有効性が示唆されている（非特許文献1）。

[0005] 歯髄再生治療においては、上記のようなstem cell therapy(幹細胞移植法)に加えて、cell homing(細胞遊走法)がある。ヒト若齢の歯根未完成歯に対しては、歯髄幹細胞を用いずに、根管内に血餅を満たす方法が主流である（非特許文献2）。あるいは、血餅の代わりにPRP(Platelet-Rich Plasma)を注入する方法もある（非特許文献3）。しかしながら、このような手法では、歯髄固有組織の再生はほとんどみられず、主に血管に富む線維性・骨様組織が再生されるにすぎないといわれている（非特許文献4）。また、動物実験においては、幹細胞を使わずに、ストローマ細胞由来因子 1α (SDF1 α)、塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF)、血小板由来成長因子(PDGF)、幹細胞因子(SCF)、および顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)等の細胞成長因子やサイトカインを遊走因子として用いるcell homing(細胞遊走法)も開発されている（非特許文献5）。しかしながら、このような手法では、十分な量の歯髄再生にはいたらず、大部分は血管を伴うかなり密な線維性結合組織であり、根管全部が石灰化する場合もあると報告されている（非特許文献6、7）。これらの知見から、特に根完成歯においては、歯髄組織再生のためには幹細胞が必須であると考えられている（非特許文献8）。

[0006] しかしながら、自家幹細胞移植には、歯髄幹細胞を用いるために智歯等の自己の不用歯が必要であること、細胞加工物の安全性の確認に高額のコストがかかること、必要な時にすぐには細胞を供給できないこと、さらに、中高齢者では幹細胞形質が変化し、分取できる歯髄幹細胞総数が減少しており、その増幅にも時間がかかるという欠点がある。同種移植では、一ロットあたりの細胞製品数の増加により細胞製造加工後の安全性確認に要するコストは自家移植に比べて減少するが、安全性が担保された歯の供給源の問題、ヒト歯髄幹細胞製品化による歯を供給したヒトに対する権利や報酬等の法律の問題、ヒトでの免疫反応の安全性の問題等、未解決な事項が残されている。

[0007] 従って、幹細胞あるいは幹細胞由来成分を用いることなく、抜髄あるいは

感染根管治療後の歯組織、すなわち、歯髄、象牙質、根尖部歯周組織の再生を促進する技術の開発が望まれる。一方、宿主細胞の遊走を促進する幹細胞源のさらなる研究により、歯髄再生のために用いる適切なシグナル因子を選択できると考えられている。すなわち、血管新生能、神経分化能をもつ宿主の幹細胞の遊走を促進し、骨形成やセメント質形成能をもつ細胞の遊走を抑制する適切なシグナル因子による歯髄再生法の今後の開発が望まれている（非特許文献9）。

[0008] とりわけ、中高齢個体の歯髄の再生は若齢個体に比べて遅延する。近年、イヌを用いた動物実験により、中高齢における歯髄幹細胞移植による歯髄再生治療において、抗CCL11中和抗体/CCR3アンタゴニストあるいはALK5阻害剤を歯髄幹細胞とともに移植すると歯髄再生が促進されることが確認された。また、歯髄幹細胞を移植する前に、トリプシンを用いて中高齢の歯の根管内を前処理することにより、歯髄再生が促進された（特許文献5）。抗CCL11中和抗体あるいはCCR3アンタゴニストは、CCL11のCCR3に対する結合を阻害することにより、シグナル伝達をブロックする。また成長分化因子11(GDF11)は、形質転換増殖因子 β (TGF- β)スーパーファミリーの受容体であるACVR1B(別名ALK4)、TGFB1(別名ALK5) およびACVR1C(別名ALK7)と結合し、ALK4およびALK5を介してシグナル伝達を行うが、ALK5阻害剤により、GDF11シグナル伝達がブロックされる。歯髄再生時には、象牙質に蓄積されている歯髄幹細胞からの分泌因子が象牙質から遊離されて、歯髄再生が促されることが考えられる（非特許文献10）。in vitroにおいて、老化歯髄幹細胞の分泌因子を含む培養上清にCCR3アンタゴニストを添加することにより、培養上清の神経突起伸長促進作用および遊走促進作用が有意に増加した。またALK5阻害剤を添加することにより、培養上清の血管誘導能および神経突起伸長促進作用が有意に増加した。これらの結果から、中高齢イヌにおけるCCR3アンタゴニストあるいはALK5阻害剤の歯髄再生促進作用は、血管誘導促進、神経突起伸長促進および遊走促進作用によることが示唆された。しかしながら、若齢イヌにおいては、CCR3アンタゴニストあるいはALK5阻害剤とともに歯髄幹細胞を移植して

も全く歯髄再生効果は認められなかった（特許文献5）。

- [0009] トリプシンは、医薬品として、壊死組織や凝血、変性タンパク質を分解させることにより、創面を正常にして抗生物質の作用を容易にする目的で使用されている（非特許文献11）。in vitroにおいてトリプシンで処理した象牙質面上に歯髄幹細胞を播種すると、細胞の付着性が増し、象牙芽細胞への分化促進がみられた。中高齢イヌでのトリプシン前処理による歯髄再生促進作用は、中高齢象牙質に蓄積されている阻害因子の不活性化または前駆体の切断による分化促進因子の活性化、象牙質への細胞の付着性の増加、歯髄幹細胞の象牙芽細胞への分化促進によることが示唆された。しかしながら、若齢イヌにおいては、トリプシン前処理による歯髄再生促進効果は全く認められなかった（特許文献5）。また、トリプシン前処理のみで歯髄幹細胞を移植しない場合、あるいはCCR3アンタゴニストあるいはALK5阻害剤の使用のみで歯髄幹細胞を移植しない場合、歯髄再生はほとんど認められなかった（特許文献5）。

先行技術文献

特許文献

- [0010] 特許文献1：特許5621105号公報
特許文献2：特許6031658号公報
特許文献3：特許5748194号公報
特許文献4：特許5939559号公報
特許文献5：国際公開第2017/170996号パンフレット

非特許文献

- [0011] 非特許文献1：Nakashima M., Iohara K., Murakami M., Nakamura H., Sato Y., Aiji Y., Matsushita K.: Pulp regeneration by transplantation of dental pulp stem cells in pulpitis: A pilot clinical study. Stem Cell Res Therapy. 8(1):61, 2017.
非特許文献2：Galler KM.: Clinical procedures for revitalization: current knowledge and considerations. Int Endod J. 2016 Oct;49(10):926-36

.

非特許文献3 : Kontakiotis EG, Filippatos CG, Tzanetakis GN, Agrafioti A.: Regenerative endodontic therapy: a data analysis of clinical protocols. J Endod. 41(2):146-54. 2015.

非特許文献4 : Del Fabbro M, Lolato A, Bucchi C, Taschieri S, Weinstein RL.: Autologous platelet concentrates for pulp and dentin regeneration: a literature review of animal studies. J Endod. 42(2):250-7, 2016

.

非特許文献5 : Yang J., Yuan G., Chen Z.: Pulp Regeneration: Current Approaches and Future Challenges. Front Physiol.: 7:58, 2016.

非特許文献6 : He L, Kim SG, Gong Q, Zhong J, Wang S, Zhou X, Ye L, Ling J, Mao JJ.: Regenerative endodontics for adult patients. J Endod. 43(9S):S57-S64, 2017.

非特許文献7 : Iohara K, Murakami M, Takeuchi N, Osako Y, Ito M, Ishizaka R, Utunomiya S, Nakamura H, Matsushita K, Nakashima M.: A novel combinatorial therapy with pulp stem cells and granulocyte colony-stimulating factor for total pulp regeneration. Stem Cells Transl. Med. 2(7): 521-533, 2013.

非特許文献8 : Cao Y, Song M, Kim E, Shon W, Chugal N, Bogen G, Lin L, Kim RH, Park NH, Kang MK. : Pulp-dentin Regeneration: Current State and Future Prospects. J Dent Res. 94(11):1544-51, 2015.

非特許文献9 : Yang J, Yuan G, Chen Z.: Pulp Regeneration: Current Approaches and Future Challenges. Front Physiol. 7:58, 2016. eCollection 2016.

非特許文献10 : Kawamura R, Hayashi Y, Murakami H, Nakashima M.: EDTA soluble chemical components and the conditioned medium from mobilized dental pulp stem cells contain an inductive microenvironment, promoting cell proliferation, migration and odontoblastic differentiation. S

tem Cell Res. Ther. 7(1):77, 2016.

非特許文献11：皮膚科性病科雑誌 64巻，野口義圀他，497-506頁1954年

発明の概要

発明が解決しようとする課題

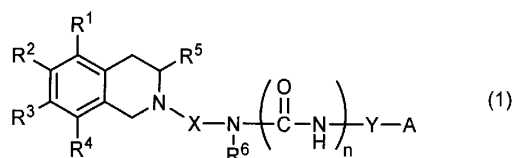
[0012] 本発明はかかる問題点に鑑みてなされたものであって、歯組織再生を行う際、自家もしくは同種幹細胞または幹細胞由来成分（細胞外分泌タンパク質およびエクソソーム等）を移植しない場合であっても、効果的な歯組織の再生を可能とする非細胞性根管充填材を提供することを目的とする。また、その非細胞性根管充填材を用いる非細胞性歯組織再生促進キットを提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0013] 本発明者らは、鋭意研究の結果、歯組織の再生を促進するテトラヒドロイソキノリン化合物を見出した。

[0014] すなわち、本発明は、一実施形態によれば、下記式(1)：

[化1]



(式中、

R¹、R²、R³、R⁴は、それぞれ独立して、-H、-ハロゲン、置換もしくは非置換のC₁₋₆アルキル、-OH、-O-C₁₋₆アルキル、-SH、-S-C₁₋₆アルキル、-COOH、-CO-C₁₋₆アルキル、-CO-O-C₁₋₆アルキル、-CO-NH-C₁₋₆アルキル、-NO₂、-NH₂、-NH-C₁₋₆アルキル、-N(C₁₋₆アルキル)₂、または-NH-CO-C₁₋₆アルキルであり、

R⁵は、置換もしくは非置換のC₁₋₆アルキル、置換もしくは非置換のC₃₋₁₀シクロアルキル、置換もしくは非置換のC₆₋₁₄アリール、-C₁₋₆アルキレン-置換もしくは

は非置換の C_{3-10} シクロアルキル、または $-C_{1-6}$ アルキレン-置換もしくは非置換の C_{6-14} アリールを示し、

R^6 は、 $-H$ 、置換もしくは非置換の $-C_{1-6}$ アルキル、または $-Y' -A'$ を示し、

X は、 C_{1-6} アルキレンを示し、

Y および Y' は、それぞれ独立して、単結合または C_{1-6} アルキレンを示し、

A および A' は、それぞれ独立して、置換もしくは非置換の C_{6-14} アリールまたは置換もしくは非置換の3～15員のヘテロ環基を示し、

n は、0または1を示す。）

で示されるテトラヒドロイソキノリン化合物もしくはその薬学的に許容される塩またはそれらの溶媒和物を含んでなる、非細胞性根管充填材を提供するものである。

[0015] 前記非細胞性根管充填材は、 $(+)-4-[2-[6-フルオロ-3-(4-フルオロベンジル)-3,4-ジヒドロイソキノリン-2(1H)-イル]エチルアミノ]メチル]-N-イソプロピルアニリン \cdot 1$ フマル酸塩または $(+)-N-[3-(メタンスルホニルアミノ)ベンジル]-2-[6-フルオロ-3-(4-フルオロベンジル)-3,4-ジヒドロイソキノリン-2(1H)-イル]エタンアミン \cdot 1$ クエン酸塩を含んでなることが好ましい。

[0016] 前記非細胞性根管充填材は、細胞外基質をさらに含んでもよい。

[0017] 前記非細胞性根管充填材は、抗CCL11中和抗体および／またはALK5阻害剤をさらに含んでもよい。

[0018] 前記非細胞性根管充填材は、G-CSF、bFGFおよびSDF-1からなる群から選択される少なくとも一つの遊走因子をさらに含んでもよい。

[0019] 前記非細胞性根管充填材は、若齢個体または中高齢個体の歯組織の再生のために使用されてよいが、若齢個体に使用されることが好ましい。

[0020] また、本発明は、一実施形態によれば、セリンプロテアーゼを含む前処理剤と、上記の非細胞性根管充填材とを含んでなる、歯組織再生促進キットを提供するものである。

[0021] 前記歯組織再生促進キットは、中高齢個体の歯組織の再生のために使用されることが好ましい。

[0022] 前記セリンプロテアーゼは、キモトリプシン様セリンプロテアーゼであることが好ましく、トリプシンであることがより好ましい。

発明の効果

[0023] 本発明に係る非細胞性根管充填材および歯組織再生促進キットは、自家もしくは同種歯髄幹細胞またはそれらの幹細胞由来成分の移植を必要とすることなく、効果的な歯組織の再生を可能とするものであり、有用である。

図面の簡単な説明

[0024] [図1]図1は、化合物B使用の非細胞性歯髄再生促進キットと、SB 328437使用の非細胞性歯髄再生促進キットとを比較した結果を示す図である。(A)は、化合物B使用の非細胞性歯髄再生促進キットにより処置した歯組織切片のHE染色像であり、(B)は、化合物B使用の非細胞性歯髄再生促進キットにより処置した歯組織切片のHE染色像(高解像度)であり、(C)は、SB 328437使用の非細胞性歯髄再生促進キットにより処置した歯組織切片のHE染色像であり、(D)は、SB 328437使用の非細胞性歯髄再生促進キットにより処置した歯組織切片のHE染色像(高解像度)である。(E)は、化合物B使用の非細胞性歯髄再生促進キットおよびSB 328437使用の非細胞性歯髄再生促進キットによる歯髄再生量を定量解析した結果を示すグラフである。

[図2]図2は、化合物B使用の非細胞性歯髄再生促進キットと、SB 328437使用の非細胞性歯髄再生促進キットとを比較した結果を示す図である。(A)は、化合物B使用の非細胞性歯髄再生促進キットにより処置した歯組織切片のレクチン染色像であり、(B)は、SB 328437使用の非細胞性歯髄再生促進キットにより処置した歯組織切片のレクチン染色像であり、(C)は、化合物B使用の非細胞性歯髄再生促進キットにより処置した歯組織切片のPGP9.5免疫染色像であり、(D)は、SB 328437使用の非細胞性歯髄再生促進キットにより処置した歯組織切片のPGP9.5免疫染色像である。

[図3]図3は、化合物B使用の非細胞性歯髄再生促進キットと、化合物B不使

用の非細胞性歯髄再生促進キットとを比較した結果を示す図である。(A)は、化合物B使用の非細胞性歯髄再生促進キットにより処置した歯組織切片のHE染色像であり、(B)は、化合物B使用の非細胞性歯髄再生促進キットにより処置した歯組織切片のHE染色像(高解像度)であり、(C)は、化合物B不使用の非細胞性歯髄再生促進キットにより処置した歯組織切片のHE染色像であり、(D)は、化合物B不使用の非細胞性歯髄再生促進キットにより処置した歯組織切片のHE染色像(高解像度)である。(E)は、化合物B使用の非細胞性歯髄再生促進キットおよび化合物B不使用の非細胞性歯髄再生促進キットによる歯髄再生量を定量解析した結果を示すグラフである。

[図4]図4は、化合物B使用の非細胞性歯髄再生促進キットと、化合物B不使用の非細胞性歯髄再生促進キットとを比較した結果を示す図である。(A)は、化合物B使用の非細胞性歯髄再生促進キットにより処置した歯組織切片のレクチン染色像であり、(B)は、化合物B不使用の非細胞性歯髄再生促進キットにより処置した歯組織切片のレクチン染色像であり、(C)は、化合物B使用の非細胞性歯髄再生促進キットにより処置した歯組織切片のPGP9.5免疫染色像であり、(D)は、化合物B不使用の非細胞性歯髄再生促進キットにより処置した歯組織切片のPGP9.5免疫染色像である。

[図5]図5は、トリプシン前処理を行った場合と行わなかった場合における、化合物B使用の非細胞性根管充填材の効果を比較した結果を示す図である。

(A)は、トリプシン前処理を行った場合の歯組織切片のHE染色像であり、(B)は、トリプシン前処理を行った場合の歯組織切片のHE染色像(高解像度)であり、(C)は、トリプシン前処理を行わなかった場合の歯組織切片のHE染色像であり、(D)は、トリプシン前処理を行わなかった場合の歯組織切片のHE染色像(高解像度)である。(E)は、トリプシン前処理を行った場合と行わなかった場合における、化合物B使用の非細胞性根管充填材による歯髄再生量を定量解析した結果を示すグラフである。

[図6]図6は、トリプシン前処理を行った場合と行わなかった場合における、化合物B使用の非細胞性根管充填材の効果を比較した結果を示す図である。

(A) は、トリプシン前処理を行った場合の非細胞性歯髄再生促進キットにより処置した歯組織切片のレクチン染色像であり、(B) は、トリプシン前処理を行わなかった場合の非細胞性歯髄再生促進キットにより処置した歯組織切片のレクチン染色像であり、(C) は、トリプシン前処理を行った場合の歯組織切片のPGP9.5免疫染色像であり、(D) は、トリプシン前処理を行わなかった場合の歯組織切片のPGP9.5免疫染色像である。

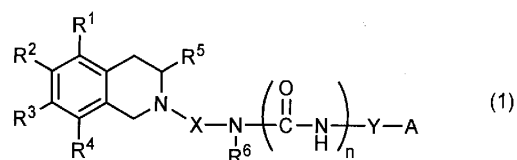
[図7]図7は、化合物C使用の非細胞性歯髄再生促進キットと、化合物C不使用の非細胞性歯髄再生促進キットとを比較した結果を示す図である。(A) は、化合物C使用の非細胞性歯髄再生促進キットにより処置した歯組織切片のHE染色像であり、(B) は、化合物C使用の非細胞性歯髄再生促進キットにより処置した歯組織切片のHE染色像（高解像度）であり、(C) は、化合物C不使用の非細胞性歯髄再生促進キットにより処置した歯組織切片のHE染色像であり、(D) は、化合物C不使用の非細胞性歯髄再生促進キットにより処置した歯組織切片のHE染色像（高解像度）である。(E) は、化合物C使用の非細胞性歯髄再生促進キットおよび化合物C不使用の非細胞性歯髄再生促進キットによる歯組織再生を象牙質の面積に基づいて定量解析した結果を示すグラフである。(F) は、化合物C使用の非細胞性歯髄再生促進キットおよび化合物C不使用の非細胞性歯髄再生促進キットによる歯組織再生を象牙芽細胞の密度に基づいて定量解析した結果を示すグラフである。

発明を実施するための形態

[0025] 以下、本発明を詳細に説明するが、本発明は本明細書中に説明した実施形態に限定されるものではない。

[0026] 本発明は、第一の実施形態によれば、式(1)：

[化2]



(式中、

R¹、R²、R³、R⁴は、それぞれ独立して、-H、-ハロゲン、置換もしくは非置換のC₁₋₆アルキル、-OH、-O-C₁₋₆アルキル、-SH、-S-C₁₋₆アルキル、-COOH、-CO-C₁₋₆アルキル、-CO-O-C₁₋₆アルキル、-CO-NH-C₁₋₆アルキル、-NO₂、-NH₂、-NH-C₁₋₆アルキル、-N(C₁₋₆アルキル)₂、または-NH-CO-C₁₋₆アルキルであり、

R⁵は、置換もしくは非置換のC₁₋₆アルキル、置換もしくは非置換のC₃₋₁₀シクロアルキル、置換もしくは非置換のC₆₋₁₄アリール、-C₁₋₆アルキレン-置換もしくは非置換のC₃₋₁₀シクロアルキル、または-C₁₋₆アルキレン-置換もしくは非置換のC₆₋₁₄アリールを示し、

R⁶は、-H、置換もしくは非置換の-C₁₋₆アルキル、または-Y'-A'を示し、

Xは、C₁₋₆アルキレンを示し、

YおよびY'は、それぞれ独立して、単結合またはC₁₋₆アルキレンを示し、

AおよびA'は、それぞれ独立して、置換もしくは非置換のC₆₋₁₄アリールまたは置換もしくは非置換の3~15員のヘテロ環基を示し、

nは、0または1を示す。）

で示されるテトラヒドロイソキノリン化合物もしくはその薬学的に許容される塩またはそれらの溶媒和物（以降、本明細書では、「化合物群A」と記載する）を含んでなる、非細胞性根管充填材である。

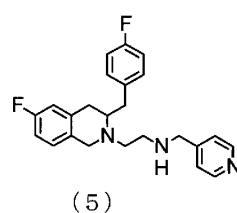
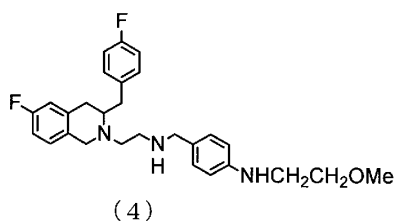
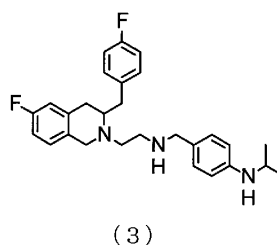
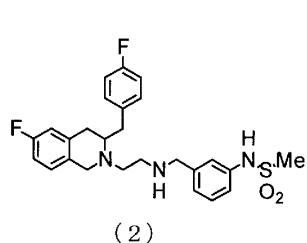
[0027] 「非細胞性」とは、細胞または細胞由来の成分（例えば、細胞外分泌タンパク質、エクソソーム等）を含まないことを意味する。また、「根管」とは、歯根部において歯髄が収納される管をいう。

[0028] 本実施形態の非細胞性根管充填材は、化合物群Aから選ばれる単独または2以上の混合物を有効成分として含むことができる。化合物群Aの化合物はCCR3アンタゴニストであり、CCR3に結合し、CCL11がCCR3に結合するのを阻害する作用を有し、CCL11のシグナル伝達を抑制することができる。

[0029] 本実施形態において使用される化合物群Aの化合物は、好ましくは、N-[3-(メタンスルホニルアミノ)ベンジル]-2-[6-フルオロ-3-(4-フルオロベンジル)-3,4-ジヒドロイソキノリン-2(1H)-イル]エタンアミン(WO2008/123582の実施例126、下記式(2))；4-[[2-[6-フルオロ-3-(4-フルオロベンジル)-3,4-ジヒドロイソキノリン-2(1H)-イル]エチルアミノ]メチル]-N-イソプロピルアニリン(WO2008/123582の実施例138、下記式(3))；4-[[2-[6-フルオロ-3-(4-フルオロベンジル)-3,4-ジヒドロイソキノリン-2(1H)-イル]エチルアミノ]メチル]-N-(2-メトキシエチル)アニリン(WO2008/123582の実施例150、下記式(4))；もしくはN-(ピリジン-4-イル)メチル-2-[6-フルオロ-3-(4-フルオロベンジル)-3,4-ジヒドロイソキノリン-2(1H)-イル]エタンアミン(WO2008/123582の実施例180、下記式(5))またはそれらの薬学的に許容される塩である。

[0030]

[化3]

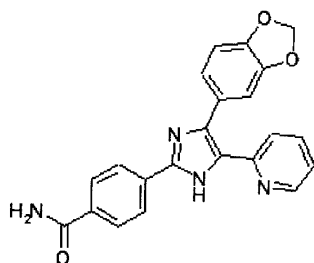


[0031] 本実施形態において使用される化合物群Aの化合物は、特に好ましくは、
 (+) - 4 - [[2 - [6 - フルオロ - 3 - (4 - フルオロベンジル) - 3 , 4 - ジヒドロイソキノリン - 2 (1 H) - イル] エチルアミノ] メチル]
 - N - イソプロピルアニリン・1フマル酸塩 (特開2009-173571
 に開示、上記式 (3) のフマル酸塩。本明細書においては「化合物B」とも
 表記する) または (+) - N - [3 - (メタンスルホニルアミノ) ベンジル
] - 2 - [6 - フルオロ - 3 - (4 - フルオロベンジル) - 3 , 4 - ジヒド
 ロイソキノリン - 2 (1 H) - イル] エタンアミン・1クエン酸塩 (特開2
 009-191048に開示、上記式 (2) のクエン酸塩。本明細書におい
 ては「化合物C」とも表記する) である。

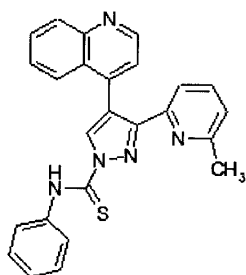
[0032] 化合物群Aの化合物は、WO2008/123582に記載の化学合成方
 法およびそれに準ずる化学合成方法に、適宜従来公知の種々の方法を組み合
 わせることにより製造することができる。

- [0033] 本実施形態の非細胞性根管充填材は、上記有効成分のみから構成されてもよいが、任意の成分として、細胞外基質、抗CCL11中和抗体および／もしくはALK5阻害剤、ならびに／またはG-CSF、bFGFおよびSDF-1からなる群から選択される少なくとも一つの遊走因子をさらに含んでもよい。
- [0034] 本実施形態の非細胞性根管充填材において使用できる細胞外基質は、特に限定されるものではないが、例えば、コラーゲン、人工プロテオグリカン、ゼラチン、ハイドロゲル、フィブリン、フォスフォホリン、ヘパラン硫酸、ヘパリン、ラミニン、フィブロネクチン、アルギン酸、ヒアルロン酸、キチン、キトサン、PLA、PLGA、PEG、PGA、PDLLA、PCL、ハイドロキシアパタイト、 β -TCP、炭酸カルシウム等が挙げられる。また、細胞外基質は、金やチタン等の金属基体上に被覆させて用いてもよい。
- [0035] 本実施形態の非細胞性根管充填材において使用できる抗CCL11中和抗体は、任意の公知のものであってよい。抗CCL11中和抗体は、CCL11と結合し、CCL11がCCR3に結合するのを阻害する作用を有し、CCL11のシグナル伝達を抑制することができる。抗CCL11中和抗体は市販されており、本実施形態では、そのような市販品を用いることができる。
- [0036] 本実施形態の非細胞性根管充填材において使用できるALK5阻害剤は、GDF11シグナル伝達を阻害する任意の公知の化合物であってよい。種々のALK5阻害剤が市販されており、本実施形態では、そのような市販品を用いることができる。本実施形態におけるALK5阻害剤としては、特に限定されないが、例えば以下の化合物を用いることができる。

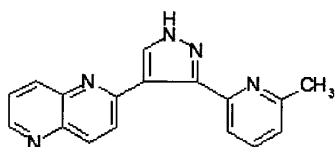
[0037] [化4]



[化5]



[化6]



[0038] 本実施形態の非細胞性根管充填材において使用できる遊走因子は、特に限定されるものではないが、例えば、G-CSF、SDF-1、bFGF、TGF- β 、NGF、PDGF、BDNF、GDNF、EGF、VEGF、SCF、MMP3、Slit、GM-CSF、LIF、HGF等が挙げられ、これらから選択される単独または2以上を組み合わせ用いることができる。遊走因子は、歯組織周辺の幹細胞の遊走能を促進することができる。本実施形態において使用できる遊走因子は、好ましくはG-CSF、bFGFおよびSDF-1からなる群から選択される。上記遊走因子はいずれも市販されており、本実施形態では、そのような市販品を用いることができる。

[0039] 本実施形態の非細胞性根管充填材において、上記成分の含有量は、それぞ

れ、例えば50 ng/ml～200 µg/mlの範囲であってよく、好ましくは3 µg/ml～100 µg/mlである。また、有効成分（化合物群Aの化合物）とその他の任意の成分との混合比は、特に限定されるものではなく、例えば10重量%：90重量%～90重量%：10重量%とすることが可能である。また、本実施形態の非細胞性根管充填材は、上記成分の他、必要に応じて、薬学的に許容される公知の希釈液、担体、賦形剤等と組み合わせて調製されてよい。

[0040] 本実施形態の非細胞性根管充填材は、若齢個体にも中高齢個体にも適用可能であるが、若齢個体に使用されることが好ましい。ここで、若齢個体とは、特に限定されるものではないが、例えば、ヒトである場合は年齢1歳以上29歳以下であり、ラットである場合は生後1週齢以上29週齢以下であり、イヌである場合は生後1週齢以上1年齢以下である。

[0041] 本実施形態の非細胞性根管充填材は、従来公知の歯科用根管充填材と同様にして、根管内に注入することにより使用することができる。

[0042] 本発明は、第二の実施形態によれば、セリンプロテアーゼを含む前処理剤と、上記非細胞性根管充填材とを含んでなる、歯組織再生促進キットである。

[0043] 本実施形態において「歯組織」とは、歯髄、象牙質、および根尖歯周組織の少なくとも何れか一つを包含する組織を意味する。

[0044] 本実施形態における「前処理剤」は、非細胞性根管充填材を根管に挿入する前に使用される。これにより、歯組織および歯周組織中の組織再生を阻害する因子を分解し、かつ／または遊走因子や分化促進因子の潜在型を活性型へと変換することができる。

[0045] 本実施形態のキットにおいて使用される前処理剤は、セリンプロテアーゼを含む。セリンプロテアーゼは、触媒残基として求核攻撃を行うセリン残基をもつプロテアーゼ（タンパク質分解酵素）である。セリンプロテアーゼは、アミノ酸配列や立体構造の類似性から、スブチリシン様セリンプロテアーゼと、キモトリプシン様セリンプロテアーゼとに分類される。前者には、サブチリシンBPN'、テルミターゼ、プロテイナーゼK、ランチビオティックペプ

チダーゼ、ケキシシ、ククミシシ等があり、後者には、トリプシシ、キモトリプシシ、トロンピン、Xa因子、エラスターゼ等がある。本実施形態において使用できるセリンプロテアーゼは、上記から選択される単独または2以上を組み合わせる用いることができるが、好ましくはキモトリプシシ様セリンプロテアーゼであり、より好ましくはトリプシシである。

[0046] 本実施形態のキットにおいて使用される前処理剤におけるセリンプロテアーゼの濃度は、歯組織および歯周組織中の組織再生を阻害する因子を分解でき、かつ／または遊走因子や分化促進因子の潜在型を活性型へと変換することができる限り、特に限定されるものではなく、例えば10 $\mu\text{g/ml}$ (0.001%) ~ 50 mg/ml (5%) であってよく、好ましくは500 $\mu\text{g/ml}$ (0.05%) ~ 5 mg/ml (0.5%) である。

[0047] 本実施形態において使用される前処理剤は、ナノバブルをさらに含んでもよい。ここで、「ナノバブル」とは、ナノメートル単位の直径を有する気泡、または、その内腔にガスもしくはガス前駆体を包含する脂質小胞であって、ナノメートル単位の直径を有するものをいう。本実施形態のキットにおける前処理剤に使用されるナノバブルの直径は、例えば10~500nmであり、好適には70~300nmである。なお、ナノバブルの直径は、例えばナノ粒子分布測定装置 (SALD-7100、島津製作所) により測定することができる。ナノバブルの脂質組成、帯電状態、密度、重量等は適宜決定され得る。ナノバブルの調製に用いられる脂質は、特に限定されるものではないが、例えばリン脂質、グリセロ糖脂質およびスフィンゴ糖脂質等であることができ、これらの脂質に、1級アミノ基、2級アミノ基、3級アミノ基または第4級アンモニウム基が導入されたカチオン性脂質であってよい。前処理剤におけるナノバブルの濃度は、特に限定されるものではないが、例えば、 2×10^7 個/ cm^3 ~ 2×10^9 個/ cm^3 とすることができる。ナノバブル濃度は、例えば電子スピン共鳴法 (ESR) により定量解析することが可能である。

[0048] 前処理は、前処理剤を根管内に注入することにより行えばよい。前処理時間は、用いるセリンプロテアーゼの種類および濃度に応じて適宜決定するこ

とができるが、例えば3～30分間であってよく、好ましくは5～20分間であり、より好ましくは10分間である。

[0049] 本実施形態のキットは、上記前処理剤および非細胞性根管充填材に加え、追加の緩衝液、試薬、説明書等をさらに含んでもよい。

[0050] 本実施形態のキットは、若齢個体にも中高齢個体にも適用可能であるが、中高齢個体に使用されることが好ましい。ここで、中齢個体とは、特に限定されるものではないが、例えば、ヒトである場合は年齢30歳以上49歳以下であり、ラットである場合は生後30週齢以上39週齢以下であり、イヌである場合は生後2年齢以上4年齢以下であり得る。高齢個体とは、特に限定されるものではないが、例えば、ヒトである場合は年齢50歳以上であり得、ラットである場合は生後40週齢以上であり、イヌである場合は生後5年齢以上であり得る。従って、本実施形態のキットは、ヒトであれば30歳以上、ラットであれば生後30週齢以上、イヌであれば生後2年以上の個体に使用されることが好ましい。

実施例

[0051] 以下に実施例を挙げ、本発明についてさらに説明する。なお、これらは本発明を何ら限定するものではない。

[0052] [実施例 1]

(若齢イヌの抜髄後歯髄再生)

全身麻酔を施した後、若齢（12か月齢）のイヌ上下顎左右前歯部に抜髄処置を行い、根尖部まで#55で拡大後、5%次亜塩素酸ナトリウム溶液と3%過酸化水素水で交互洗浄し、生理食塩水で洗浄し、乾燥後、レジンにて完全に仮封した。抜髄処置の3～12日後に仮封をはずし、再度、交互洗浄、生理食塩水で洗浄した。その後、根管內を3%EDTA（スメアクリーン、日本歯科薬品）で満たし、2分間作用させ、さらに生理食塩水で洗浄し、乾燥させた。その後、根管內にトリプシン製剤（フランセチンTパウダー（持田製薬）（10 mgあたり結晶トリプシン 2,500 USP））5 mg/ml（0.5%、ナノバブル水（Foamest 8（ナック販売）により調製；庵原耕一郎、中島美砂子「難治性根尖性歯周炎に

おける薬剤含有ナノバブル水による根管内除菌効果の検討」、日本歯科保存学雑誌、第63巻第1号p. 73～82参照)に溶解)を10分間適用することにより前処理を行い、その後、生理食塩水で洗浄した。次いで、細胞外基質であるコラーゲン(コーケンアテロコラーゲンインプラント、高研) 20 μ lに、再生促進化合物としてCCR3アンタゴニスト(1.25 μ gの化合物B、または0.83 μ gのSB328437 (Tocris Bioscience))、遊走因子として150ngのG-CSF(ノイロジン、中外製薬)を添加した非細胞性根管充填材を調製し、根管に充填した。その後、その上に止血用ゼラチンスポンジ(スポンゼル、アステラス製薬)を置き、グラスアイオノマーセメントおよび光重合レジンにて窩洞を完全封鎖した。移植28日後に抜歯し、通法に従って縦断面の5 μ mパラフィン切片を作製し、H-E染色後、形態観察を行った。歯髄再生量は、1サンプルにつき4枚の切片について、歯髄腔の面積に対する再生歯髄の面積の比率を測定し、4サンプルの平均値を算出して評価した。血管新生は、28日標本を、Fluorescein labeled Griffonia (Bandeiraea) Simplicifolia Lectin I (GSL I, BSL I)およびFluorescein labeled Galanthus Nivalis (Snowdrop) Lectin (GNL) (ベクターラボラトリーズ) (20 μ g/ml)により15分間染色し、比較検討を行った。神経突起伸長は、28日標本にを、抗PGP9.5抗体(UltraClone、1:10,000)により免疫染色し、比較検討を行った。

[0053] 結果を図1および図2に示す。CCR3アンタゴニストとしてSB328437または化合物Bを含む非細胞性根管充填材により、豊富な血管を伴う疎性結合組織の歯髄再生がみられ、一方で、炎症性細胞の浸潤や内部吸収はみられなかった(図1 A～D)。また、歯髄腔に占める再生歯髄の割合を図1 Eに示す。CCR3アンタゴニストとしてSB328437または化合物Bを含む非細胞性根管充填材では、歯髄再生量に統計学的有意差はみられなかった(図1 E)。さらに、CCR3アンタゴニストとしてSB328437または化合物Bを含む非細胞性根管充填材のいずれを用いた場合も、血管新生(図2 A、B)および神経突起伸長(図2 C、D)が確認され、象牙質側壁に象牙芽細胞様細胞が付着し、象牙質様硬組織が形成されることが明らかとなった。

[0054] [実施例 2]

(化合物 B の有無による若齢イヌの抜髄後歯髄再生の比較)

全身麻酔を施した後、若齢（11 か月齢）のイヌ上下顎左右前歯部に抜髄処置を行い、根尖部まで#55で拡大後、5%次亜塩素酸ナトリウム溶液と3%過酸化水素水で交互洗浄し、生理食塩水で洗浄し、ペーパーポイントで根管を完全乾燥、止血した後、セメントとレジンにて完全に仮封した。抜髄処置8日後、仮封をはずし、再度、交互洗浄、生理食塩水で洗浄した。その後、根管を3%EDTA（スメアクリン、日本歯科薬品）で満たし、2分間作用させ、さらに生理食塩水で洗浄し、乾燥させた。その後、根管内にトリプシン製剤（フランセチンTパウダー（持田製薬）（10 mgあたり結晶トリプシン 2,500 USP））5 mg/ml（0.5%、ナノバブル水（Foamest 8（ナック販売）により調製、実施例1に同じ）に溶解）を10分間適用することにより前処理を行い、その後、生理食塩水で洗浄した。次いで、細胞外基質であるコラーゲン（コーケンアテロコラーゲンインプラント、高研）20 μ lに、再生促進化合物として1.25 μ gの化合物 B、遊走因子として150ngのG-CSF（ノイトロジン、中外製薬）を添加した非細胞性根管充填材を調製し、根管に充填した。一方、化合物 B を含まない以外は同様の組成の非細胞性根管充填材を、同様の手順により根管に充填したものを対照とした。その後、その上に止血用ゼラチンスポンジ（スポンゼル、アステラス製薬）を置き、ガラスアイオノマーセメントおよび光重合レジンにて窩洞を完全封鎖した。移植28日後に抜歯し、実施例1と同様にして、通法に従って縦断面の5 μ mパラフィン切片を作製し、H-E染色後、形態観察を行った。また、実施例1と同様にして、血管新生はBS-1 lectin 染色により、神経突起伸長はPGP9.5の免疫染色により確認した。

[0055] 結果を図3および図4に示す。化合物 B を含む非細胞性根管充填材で処置した場合には、十分な歯髄様組織の再生が見られたが（図3 A、B）、化合物 B を含まない非細胞性根管充填材で処置した場合には、ごく少量の再生しか見られなかった（図3 C、D）。両者の歯髄再生量には、統計学的有意差が見られた（図3 E）。一方、血管新生（図4 A、B）および神経突起伸長

(図4 C、D) は、どちらの場合にも同様に見られた。これらの結果から、歯髄組織の再生には化合物Bが有効な成分であることが示された。

[0056] 〔実施例3〕

(トリプシン前処理の有無による若齢イヌの抜髄後歯髄再生の比較)

全身麻酔を施した後、若齢(11か月齢)のイヌ下顎左右前歯部に抜髄処置を行い、根尖部まで#50で拡大後、5%次亜塩素酸ナトリウム溶液と3%過酸化水素水で交互洗浄し、生理食塩水で洗浄し、ペーパーポイントで根管内を完全乾燥、止血した後、セメントとレジンにて完全に仮封した。抜髄処置後、仮封をはずし、再度、交互洗浄、生理食塩水で洗浄した。その後、根管内を3%EDTA(スメアクリーン、日本歯科薬品)で満たし、2分間作用させ、さらに生理食塩水で洗浄し、乾燥させた。その後、左側の根管内にトリプシン製剤(フランセチンTパウダー(持田製薬)(10 mgあたり結晶トリプシン 2,500 USP)) 5 mg/ml (0.5%、ナノバブル水(Foamest 8(ナック販売))により調製、実施例1に同じ)に溶解)を10分間適用することにより前処理を行い、その後、生理食塩水で洗浄した。一方、右側の根管については、上記前処理を行わなかった(対照)。次いで、細胞外基質であるコラーゲン(コーケンアテロコラーゲンインプラント、高研) 20 μ lに、再生促進化合物として1.25 μ gの化合物B、遊走因子として150ngのG-CSF(ノイトロジン、中外製薬)を添加した非細胞性根管充填材を調製し、左右の根管に充填した。その後、その上に止血用ゼラチンスポンジ(スポンゼル、アステラス製薬)を置き、グラスアイオノマーセメントおよび光重合レジンにて窩洞を完全封鎖した。移植28日後に抜歯し、実施例1と同様にして、通法に従って縦断面の5 μ mパラフィン切片を作製し、H-E染色後、形態観察を行った。また、実施例1と同様にして、血管新生はBS-1 lectin染色により、神経突起伸長はPGP9.5の免疫染色により確認した。

[0057] 結果を図5および図6に示す。トリプシン前処理の有無によらず、歯髄組織の再生がみられ(図5 A~D)、トリプシン前処理を行った場合に再生量がやや増加する傾向が見られたが、統計学的有意差は見られなかった(図5

E)。また、トリプシン前処理を行った場合には、象牙芽細胞様細胞がより象牙質側壁に付着しており、象牙質様硬組織の形成量もやや高い傾向が見られた(図5 A、B)。さらに、血管新生(図6 A、B)および神経突起伸長(図6 C、D)は、どちらの場合にも同様に見られた。これらの結果から、トリプシン前処理を行わずに非細胞性根管充填材を注入すると、血管新生と神経伸長を伴う歯髄が再生され、トリプシン前処理を行った場合と同様に、象牙質側壁に象牙芽細胞様細胞が付着し、象牙芽細胞への分化および象牙質様硬組織の形成が促進されることが明らかとなった。

[0058] [実施例4]

(化合物Cの有無による若齢イヌの抜髄後歯髄再生の比較)

全身麻酔を施した後、若齢(11か月齢)のイヌ上下顎左右前歯部に抜髄処置を行い、根尖部まで#60で拡大後、5%次亜塩素酸ナトリウム溶液と3%過酸化水素水で交互洗浄し、生理食塩水で洗浄し、ペーパーポイントで根管内を完全乾燥、止血した後、セメントとレジンにて完全に仮封した。抜髄処置後、仮封をはずし、再度、交互洗浄、生理食塩水で洗浄した。その後、根管内を3%EDTA(スメアクリン、日本歯科薬品)で満たし、2分間作用させ、さらに生理食塩水で洗浄し、乾燥させた。その後、根管内にトリプシン製剤(フランセチンTパウダー(持田製薬)(10 mgあたり結晶トリプシン 2,500 USP)) 0.5 mg/ml (0.05%、ナノバブル水(Foamest 8(ナック販売)により調製、実施例1に同じ)に溶解)を10分間適用することにより前処理を行い、その後、生理食塩水で洗浄した。次いで、細胞外基質であるコラーゲン(コーケンアテロコラーゲンインプラント、高研) 20 μ lに、再生促進化合物として1.2 μ gの化合物C、遊走因子として150ngのG-CSF(ノイトロジン、中外製薬)を添加した非細胞性根管充填材を調製し、根管に充填した。一方、化合物Cを含まない以外は同様の組成の非細胞性根管充填材を、同様の手順により根管に充填したものを対照とした。その後、その上に止血用ゼラチンスポンジ(スポンゼル、アステラス製薬)を置き、ガラスアイオノマーセメントおよび光重合レジンにて窩洞を完全封鎖した。移植28日後に抜歯し、実施例1と

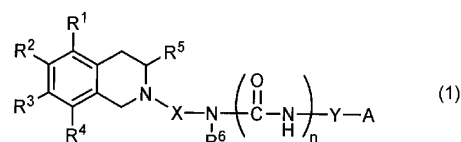
同様にして、通法に従って縦断面の5 μ mパラフィン切片を作製し、H-E染色後、形態観察を行った。象牙質の面積は、3サンプルにつき1枚の切片について、歯の面積に対する象牙質の面積の比率を測定し、3サンプルの平均値を算出して評価した。象牙質細胞の密度は、3サンプルにつき1枚の切片について、根管側壁から1mmの範囲に含まれる象牙質細胞数を計測することにより算出した。

[0059] 結果を図7に示す。化合物Cを含む非細胞性根管充填材で処置した場合には、十分な歯髄様組織の再生が見られたが（図7 A、B）、化合物Cを含まない非細胞性根管充填材で処置した場合には、ごく少量の再生しか見られなかった（図7 C、D）。また、化合物Cを含む非細胞性根管充填材で処置した場合には、化合物Cを含まない非細胞性根管充填材で処置した場合に比べて、象牙質の面積が増加する傾向が見られ（図7 E）、象牙質細胞の密度が増大した（図7 F）。これらの結果から、歯髄組織の再生には化合物Cが有効な成分であることが示された。

請求の範囲

[請求項1] 下記式(1)：

[化1]



(式中、

R¹、R²、R³、R⁴は、それぞれ独立して、-H、-ハロゲン、置換もしくは非置換のC₁₋₆アルキル、-OH、-O-C₁₋₆アルキル、-SH、-S-C₁₋₆アルキル、-COOH、-CO-C₁₋₆アルキル、-CO-O-C₁₋₆アルキル、-CO-NH-C₁₋₆アルキル、-NO₂、-NH₂、-NH-C₁₋₆アルキル、-N(C₁₋₆アルキル)₂、または-NH-CO-C₁₋₆アルキルであり、

R⁵は、置換もしくは非置換のC₁₋₆アルキル、置換もしくは非置換のC₃₋₁₀シクロアルキル、置換もしくは非置換のC₆₋₁₄アリール、-C₁₋₆アルキレン-置換もしくは非置換のC₃₋₁₀シクロアルキル、または-C₁₋₆アルキレン-置換もしくは非置換のC₆₋₁₄アリールを示し、

R⁶は、-H、置換もしくは非置換の-C₁₋₆アルキル、または-Y'-A'を示し、

Xは、C₁₋₆アルキレンを示し、

YおよびY'は、それぞれ独立して、単結合またはC₁₋₆アルキレンを示し、

AおよびA'は、それぞれ独立して、置換もしくは非置換のC₆₋₁₄アリールまたは置換もしくは非置換の3~15員のヘテロ環基を示し、

nは、0または1を示す。)

で示されるテトラヒドロイソキノリン化合物もしくはその薬学的に許容される塩またはそれらの溶媒和物を含んでなる非細胞性根管充填材

。

[請求項2] (＋)－4－[[2－[6－フルオロ－3－(4－フルオロベンジル)－3,4－ジヒドロイソキノリン－2(1H)－イル]エチルアミノ]メチル]－N－イソプロピルアニリン・1フマル酸塩または(＋)－N－[3－(メタンスルホニルアミノ)ベンジル]－2－[6－フルオロ－3－(4－フルオロベンジル)－3,4－ジヒドロイソキノリン－2(1H)－イル]エタンアミン・1クエン酸塩を含んでなる、請求項1に記載の非細胞性根管充填材。

[請求項3] 細胞外基質をさらに含む、請求項1または2に記載の非細胞性根管充填材。

[請求項4] 抗CCL11中和抗体および／またはALK5阻害剤をさらに含む、請求項1～3のいずれか1項に記載の非細胞性根管充填材。

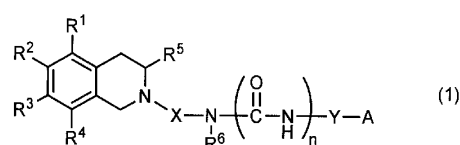
[請求項5] G-CSF、bFGFおよびSDF-1からなる群から選択される少なくとも一つの遊走因子をさらに含む、請求項1～4のいずれか1項に記載の非細胞性根管充填材。

[請求項6] 若齢個体の歯組織の再生のために使用される、請求項1～5のいずれか1項に記載の非細胞性根管充填材。

[請求項7] セリンプロテアーゼを含む前処理剤と、

下記式(1)：

[化2]



(式中、

R¹、R²、R³、R⁴は、それぞれ独立して、-H、-ハロゲン、置換もしくは非置換のC₁₋₆アルキル、-OH、-O-C₁₋₆アルキル、-SH、-S-C₁₋₆アルキル

、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CO}-\text{C}_{1-6}$ アルキル、 $-\text{CO}-\text{O}-\text{C}_{1-6}$ アルキル、 $-\text{CO}-\text{NH}-\text{C}_{1-6}$ アルキル、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NH}-\text{C}_{1-6}$ アルキル、 $-\text{N}(\text{C}_{1-6}\text{アルキル})_2$ 、または $-\text{NH}-\text{CO}-\text{C}_{1-6}$ アルキルであり、

R^5 は、置換もしくは非置換の C_{1-6} アルキル、置換もしくは非置換の C_{3-10} シクロアルキル、置換もしくは非置換の C_{6-14} アリール、 $-\text{C}_{1-6}$ アルキレン-置換もしくは非置換の C_{3-10} シクロアルキル、または $-\text{C}_{1-6}$ アルキレン-置換もしくは非置換の C_{6-14} アリールを示し、

R^6 は、 $-\text{H}$ 、置換もしくは非置換の $-\text{C}_{1-6}$ アルキル、または $-\text{Y}'$ $-\text{A}'$ を示し、

X は、 C_{1-6} アルキレンを示し、

Y および Y' は、それぞれ独立して、単結合または C_{1-6} アルキレンを示し、

A および A' は、それぞれ独立して、置換もしくは非置換の C_{6-14} アリールまたは置換もしくは非置換の3～15員のヘテロ環基を示し、

n は、0または1を示す。）

で示されるテトラヒドロイソキノリン化合物もしくはその薬学的に許容される塩またはそれらの溶媒和物を含んでなる非細胞性根管充填材と

を含んでなる、歯組織再生促進キット。

[請求項8]

(+) $-\text{4}-[[2-[6-\text{フルオロ}-3-(4-\text{フルオロベンジル})-3,4-\text{ジヒドロイソキノリン}-2(1\text{H})-\text{イル}] \text{エチルアミノ}] \text{メチル}] -\text{N}-\text{イソプロピルアニリン} \cdot 1 \text{フマル酸塩}$ または
(+) $-\text{N}-[3-(\text{メタンスルホニルアミノ})\text{ベンジル}]-2-[6-\text{フルオロ}-3-(4-\text{フルオロベンジル})-3,4-\text{ジヒドロイソキノリン}-2(1\text{H})-\text{イル}] \text{エタンアミン} \cdot 1 \text{クエン酸塩}$ を含んでなる、請求項7に記載の歯組織再生促進キット。

[請求項9]

前記非細胞性根管充填材が細胞外基質をさらに含む、請求項7または8に記載の歯組織再生促進キット。

- [請求項10] 前記非細胞性根管充填材が抗CCL11中和抗体および／またはALK5阻害剤をさらに含む、請求項7～9のいずれか1項に記載の歯組織再生促進キット。
- [請求項11] 前記非細胞性根管充填材が、G-CSF、bFGFおよびSDF-1からなる群から選択される少なくとも一つの遊走因子をさらに含む、請求項7～10のいずれか1項に記載の歯組織再生促進キット。
- [請求項12] 前記セリンプロテアーゼがキモトリプシン様セリンプロテアーゼである、請求項7～11のいずれか1項に記載の歯組織再生促進キット。
- [請求項13] 前記キモトリプシン様セリンプロテアーゼがトリプシンである、請求項7～12のいずれか1項に記載の歯組織再生促進キット。
- [請求項14] 中高齢個体の歯組織の再生のために使用される、請求項7～13のいずれか1項に記載の歯組織再生促進キット。