

令和 5 年 6 月 6 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09938

研究課題名(和文) APPLICATION OF RvD2 AS A REGENERATIVE DIRECT PULP CAPPING MATERIAL

研究課題名(英文) APPLICATION OF RvD2 AS A REGENERATIVE DIRECT PULP CAPPING MATERIAL

研究代表者

アリアス・マルティネス スレマ・ロサリア (ARIAS MARTINEZ, Zulema Rosalia)

岡山大学・医歯薬学域・助教

研究者番号：70824580

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：RvD2を歯髄表面に直接塗布すると、修復性象牙質(RD)の形成が誘導された。そのメカニズムは、RvD2が歯髄組織においてVEGFやTGF- β などの組織再生に関わるサイトカインを分泌し、細胞増殖を促進することによると考えられる。また、RvD2はTRAP1痛覚受容体遺伝子の発現を低下させ、痛みを抑制した。これらの結果は、RvD2がバイタルパルプセラピー(VPT)に使用できることを示唆しており、炎症を誘発しない既存のVPT試薬とは異なるメカニズムで修復作用を発揮する可能性がある。RvD2は歯髄幹細胞移植に基づく治療に匹敵する次世代VTPの材料となり得ると結論付けた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

We probed that RvD2 can be the ideal candidate for vital pulp therapy because it is a natural compound produced by several cells during the resolution of the inflammation phase, having anti-inflammatory properties, stimulating reparative dentin, and reducing pain.

研究成果の概要(英文)：RvD2 applied directly to the pulpal surface, induced reparative dentin (RD) formation. The possible mechanism may be related to the RvD2-induced secretion of cytokines related to tissue regeneration such as VEGF and TGF- β in the pulp tissue thus promoting cell proliferation. RvD2 also decreased the TRAP1 pain receptor gene expression thus suppressing pain. These results suggest that RvD2 can be used for Vital pulp therapy (VPT) and may exert reparative actions by a mechanism different from that of existing VPT reagents, which do not induce inflammation. We conclude that RvD2 could be a material for the next generation VTP, comparable to pulp stem cell transplantation-based therapies.

研究分野：Regenerative Endodontics

キーワード：Vital pulp therapy Resolvin D2 Reparative dentin Dental pulp cell

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

直接覆髄法は、抜髄処置を避け、歯髄を温存するために重要な手法の一つである。水酸化カルシウム製剤 ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) などの既存の覆髄材料は、術後疼痛や細胞傷害などの問題が生じることから、異なった作用機序と生体親和性を持った新規覆髄材料の開発が求められる。

レゾルピンは ω -3 PUFA から生体内で合成され、炎症収束作用をもつ脂質メディエーターである。抗炎症作用以外にも、貪食細胞の活性化を介した抗菌作用や血管新生作用などが報告されており、様々な炎症性疾患に対する臨床応用が検討されている。

本研究では、歯髄保存療法における RvD2 の直接覆髄剤としての有用性を検討するために、ラット直接覆髄モデルを用いて修復象牙質形成能とその免疫学的メカニズムを解析した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、RvD2 が歯髄保存療法において、抗炎症作用と硬組織形成作用を発揮することで、既存の直接覆髄剤とは異なったメカニズムによって良好な治療結果をもたらす可能性を検証することである。

3. 研究の方法

全身麻酔下で、SD 系ラット (8 週齢, 雄) の上顎第一臼歯を根管口上部で断髄した。その後、RvD2 (1 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) を塗布し、型リン酸三カルシウムと光重合レジンで緊密に封鎖を行った。4 週間または 6 週間後に上顎骨を回収して、コンピューター断層撮影を行った。さらに、ヘマトキシリン・エオジン染色と免疫組織染色 (RvD2 受容体の GPR18, 細胞増殖指標の Ki67, 血管内皮増殖因子の VEGF, 組織修復に関与する TGF- β) を行い、断髄面直下の組織を観察した (動物実験計画書; OKU-2019575)。なお、リン酸緩衝生理食塩水を陰性対照に、 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ を陽性対照に用いた。

4. 研究成果

まず、ラット直接覆髄モデルを用いて RvD2 の修復象牙質の形成の有無を検討した。その結果、RvD2 はいずれのタイムポイントにおいても、水酸化カルシウム製剤と同程度の修復象牙質の形成を誘導し、その形成量は 6 週間後の RvD2 高濃度群で最も多かった。さらに、GPR-18 は水酸化カルシウム製剤とレゾルピン群の歯髄組織で発現していた (図 1)。すなわち、RvD2 は直接覆髄を行った歯髄組織に作用して、修復象牙質の形成を誘導することが分かった。

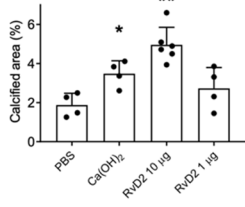
さらに、RvD2 が歯髄組織に及ぼす細胞増殖効果を検討したところ、RvD2 投与群では覆髄処置面の直下に細胞増殖能マーカーである Ki-67 陽性細胞が多く局在していた (図 2)。

また、細胞増殖についての免疫学的なメカニズムを調べるために、血管新生と組織再生に関連したサイトカイン産生量の変化を検討した。その結果、RvD2 投与群における直接覆髄後の歯髄組織では、VEGF と TGF- β の局在が増加する傾向を示した (図 3)。

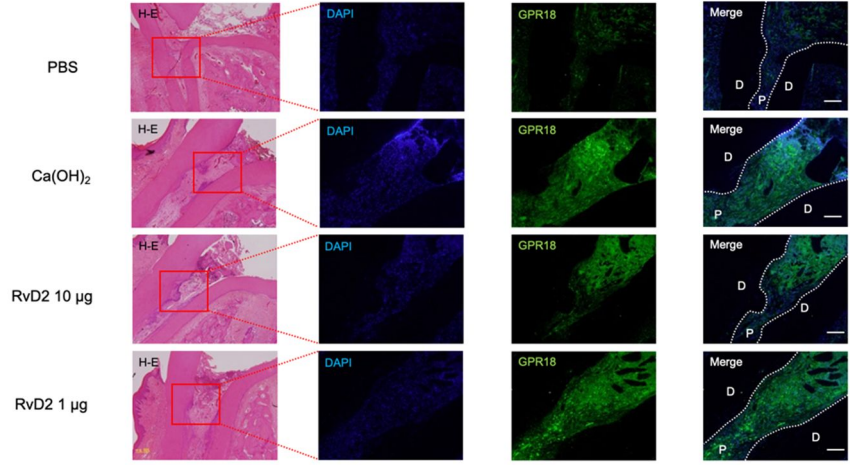
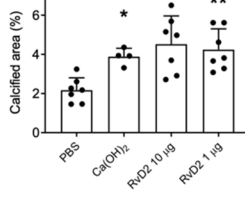
本研究から、RvD2 は直接覆髄に応用することで、修復象牙質の形成を誘導することが分かった。そのメカニズムとして、歯髄細胞の細胞増殖を促進させることで、歯髄組織中の VEGF や TGF- β などの組織再生に関連したサイトカインの分泌量を増加させていることが考えられる。

1

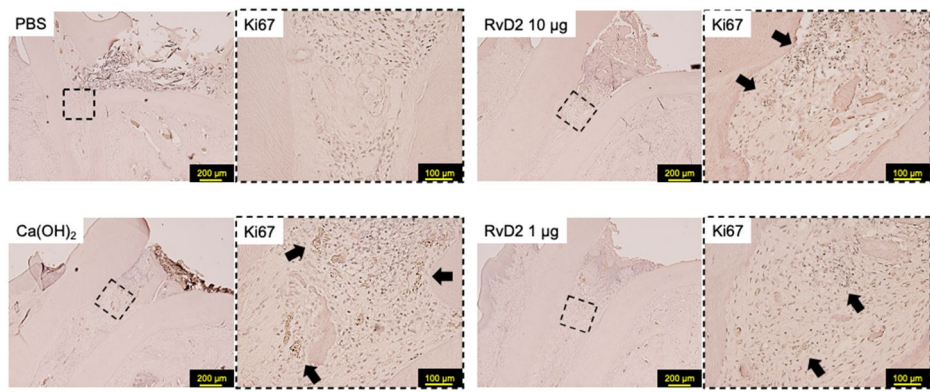
4 weeks



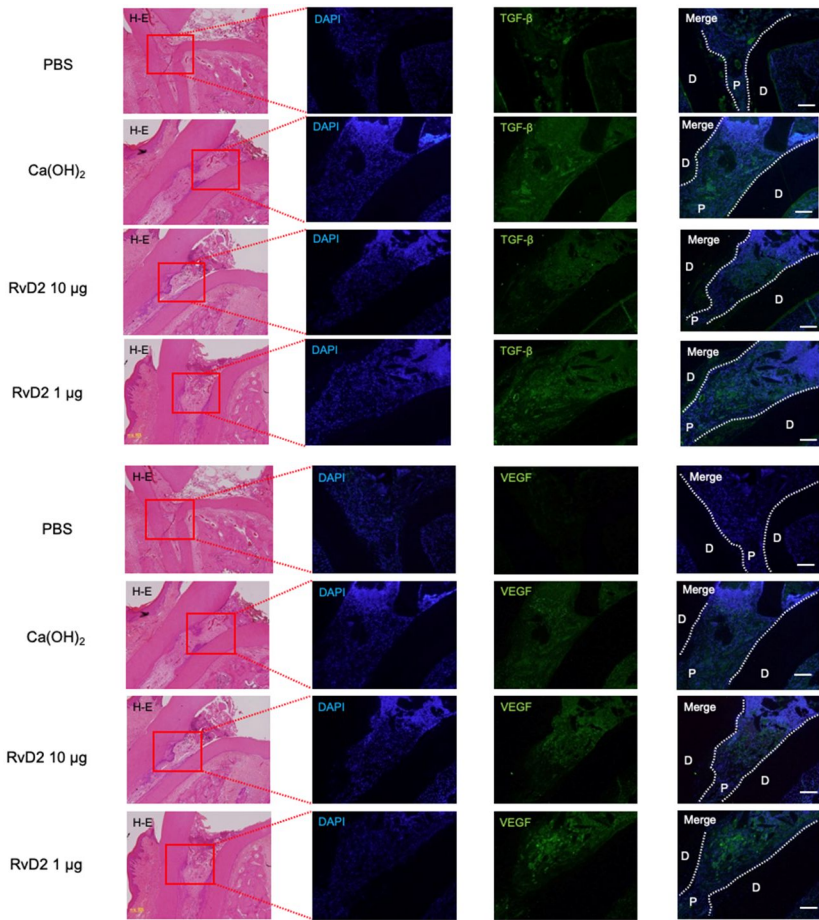
6 weeks



2



3



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Mitsuhiro Yoneda, Zulema Rosalia Arias Martinez, Shin Nakamura, Kentaro Okamoto, Masahiro Ito, Kazuya Tamura, Hidetaka Ideguchi, Kazuhiro Omori, Keisuke Yamashiro, Tadashi Yamamoto, Shogo Takashiba.
2. 発表標題 Resolvin D2 Promotes the Formation of Calcified Tissue on Pulp
3. 学会等名 2021 IADR/ AADR/ CADR General Session (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	大森 一弘 (OMORI Kazuhiro) (20549860)	岡山大学・医歯薬学域・准教授 (15301)	
研究分担者	山城 圭介 (YAMASHIRO Keisuke) (30581087)	岡山大学・大学病院・講師 (15301)	
研究分担者	高柴 正悟 (TAKASHIBA Shogo) (50226768)	岡山大学・医歯薬学域・教授 (15301)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	井手口 英隆 (IDEGUCHI Hidetaka) (80779421)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------