

平成30年9月6日現在

機関番号：13101

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2016～2017

課題番号：16H06818

研究課題名(和文) 矯正の歯の移動におけるプロスタグランジンI2に着目した疼痛メカニズム解析

研究課題名(英文) Analysis of pain mechanism focused on prostaglandin I2 during orthodontic tooth movement

研究代表者

大倉 麻里子(Ohkura, Mariko)

新潟大学・医歯学総合病院・医員

研究者番号：50779634

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、矯正力付与時での歯髄におけるプロスタグランジン(PG)I2の機能を解析するために実験的歯の移動モデルラットを作製し、PGI2合成酵素(PGIS)、IP受容体およびTRPV1に焦点を絞り、遺伝子発現解析、免疫組織化学的解析を行った。その結果、実験的歯の移動によってPGISは象牙芽細胞と線維芽細胞で、IP受容体とTRPV1では正常時から象牙芽細胞と神経線維で検出された。さらに各mRNAの発現量も歯の移動によって有意に増加したことから、象牙芽細胞や神経線維ではIP受容体によってTRPV1が活性化され、炎症や疼痛に関与する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：This study attempted to analyze the mRNA and protein expression of prostaglandin I2 synthase, IP receptor, and TRPV1 with real-time PCR and immunohistostaining in experimental force-applied rat molar pulp tissue. PGIS was immunolocalized in odontoblasts and some fibroblasts in the forced-stimulated pulp. The IP receptor and TRPV1 were detected on odontoblasts and some neuron fibers. It was concluded that PGIS, IP receptor, and TRPV1 in rat molar pulp were significantly upregulated shortly after the force application, and that the IP receptor was co-expressed on TRPV1 expressing nerves and odontoblasts. These findings suggest that the PGI2-IP receptor-TRPV1 pathway is associated with the acute phase of force induced pulp changes involving odontoblasts and nerves.

研究分野：歯科矯正学分野

キーワード：プロスタグランジンI2 TRPV1 矯正 疼痛

## 1. 研究開始当初の背景

矯正歯の移動に伴い多岐にわたる歯髄反応が生じるとされている。すなわち、象牙芽細胞の空胞変性やアポトーシス、浮腫、細胞増殖、血管新生、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ活性の上昇、および神経ペプチド・炎症性サイトカインの産生などが報告されている。一方、歯科矯正の臨床においては、患者の多くが矯正治療期間中一時的に疼痛を訴える。この疼痛は主に歯根膜で生じる虚血や炎症などの病理学的変化に起因するが、これに加え神経ペプチドの放出や神経原性炎症などの歯髄変化も疼痛に関与すると考えられている。

PGI<sub>2</sub>は歯髄における主要なアラキドン酸代謝産物で、炎症や疼痛に関与する代表的生理活性物質の1つと考えられている。また、PGI<sub>2</sub>は特異的受容体である IP 受容体と結合したのち、transient receptor potential cation channel subfamily V member 1 (TRPV1)の感作を介して末梢痛覚受容に関与することが報告されている。さらに、Prostaglandin I<sub>2</sub>合成酵素 (PGIS)は歯髄組織において象牙芽細胞や線維芽細胞で発現しており、急性炎症時に PGI<sub>2</sub>産生が亢進することも確認されている。以上のことから、PGI<sub>2</sub>は歯髄組織において炎症の調節や疼痛の認識に対して重要な役割を演じていることが予測される。

## 2. 研究の目的

本研究では、矯正歯の移動によって歯髄内で PGIS の作用により PGI<sub>2</sub>が産生され、これが IP 受容体と結合し TRPV1 の感作を引き起こすという一連の反応が歯髄組織で誘起されるとの仮説のもと、その検証を目的として、ラット臼歯歯髄における PGIS、IP 受容体および TRPV1 のタンパク局在、および PGIS、PTGIR (IP 受容体遺伝子)、TRPV1 mRNA 発現に対する矯正力付与の影響を経時的に解析した。

## 3. 研究の方法

### (1) 実験的歯の移動

8週齢 Wistar 系雄性ラット (n=32) を使用し、上顎右側第一、第二臼歯間にエラストック片を挿入し、実験的歯の移動を 6、12、24、72 時間行った。反対側同名歯を未処置歯として使用した。

### (2) 組織学的解析

組織学的解析として、実験的歯の移動 24 時間後のラットに対し灌流固定を行い、被験歯および未処置歯を上顎骨ごと摘出した。4 週間脱灰後、厚さ 4 μm のパラフィン切片を作製し、免疫組織化学的解析を行った。第二臼歯歯冠歯髄に着目し、PGIS 局在については酵素抗体法を、IP 受容体と TRPV1 の局在解析は、neurofilament (神経マーカー) および nestin (象牙芽細胞マーカー) 抗体を併用した免疫蛍光二重染色法を行った。

### (3) 遺伝子学的解析

遺伝子発現解析では実験的歯の移動 6、12、24、72 時間後に第一および第二臼歯を摘出後、mRNA 抽出と cDNA 作製を行ったのち、PGIS、PTGIR、および TRPV1 mRNA の発現変化をリアルタイム PCR 法で解析した。

## 4. 研究成果

### (1) 組織学的解析

正常歯髄の象牙芽細胞で PGIS の弱い陽性反応を認めた一方で、実験的歯の移動 24 時間後の被験歯髄ではより強い陽性反応を認めた。さらに、被験歯髄では線維芽細胞の一部にも陽性反応を認めた。(図 1)

さらに IP 受容体および TRPV1 は正常歯髄と被験歯髄において neurofilament 陽性神経線維の一部、および nestin 陽性象牙芽細胞に発現を認めた。(図 2、3)

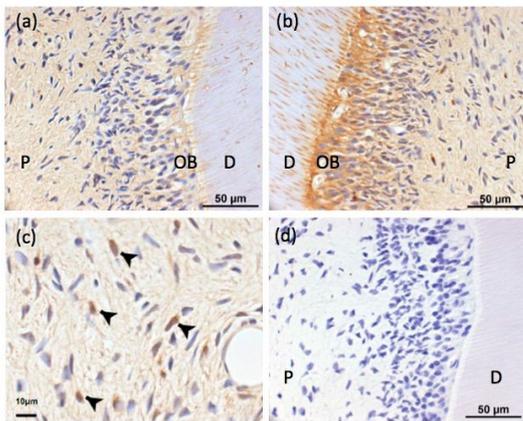


図1: PGIS免疫組織化学的解析  
 正常歯髄では象牙芽細胞にPGIS陽性反応を認めたが(a)、実験的歯の移動24時間後では象牙芽細胞だけでなく線維芽細胞にもPGIS陽性反応を認めた(b)。(c)被験歯髄線維芽細胞拡大像。(d)ネガティブコントロール。P: 歯髄組織 OB: 象牙芽細胞 D: 象牙質 矢頭: PGIS陽性線維芽細胞

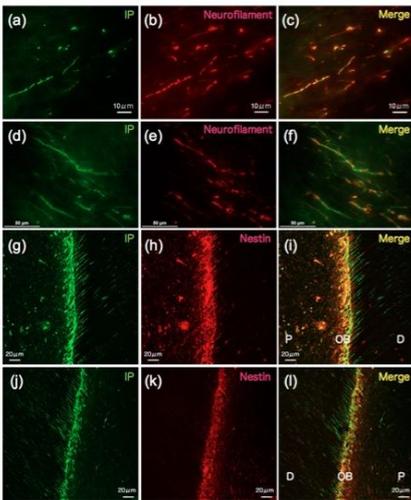


図2: IP受容体免疫組織化学的解析  
 正常歯髄(a-c, g-i)、実験的歯の移動24時間後の歯髄(d-f, j-l) P: 歯髄組織 OB: 象牙芽細胞 D: 象牙質

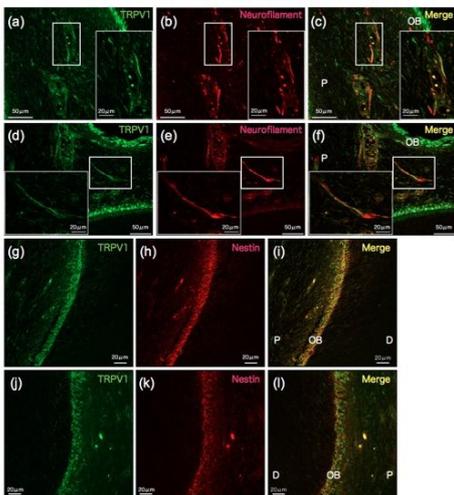


図3: TRPV1免疫組織化学的解析  
 正常歯髄(a-c, g-i)、実験的歯の移動24時間後の歯髄(d-f, j-l) P: 歯髄組織 OB: 象牙芽細胞 D: 象牙質

## (2) 遺伝子学的解析

PGIS、IPおよびTRPV1のmRNA発現量は正常歯髄と比較して実験的歯の移動12時間後、あるいは24時間後まで有意に増加し、72時間後にはすべての遺伝子において減少傾向を示した。(Dunnett test: \*\*P<0.01 \*P<0.05)(図4、5、6)

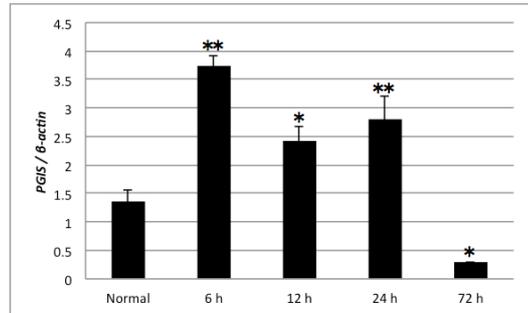


図4: PGIS mRNA 発現解析

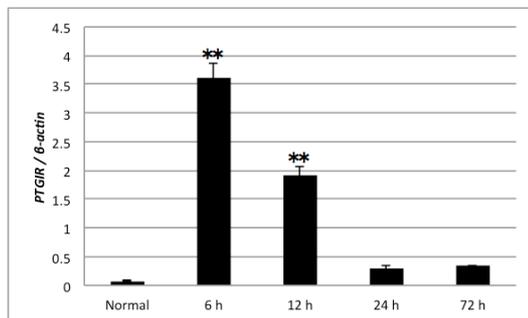


図5: PTGIR mRNA 発現解析

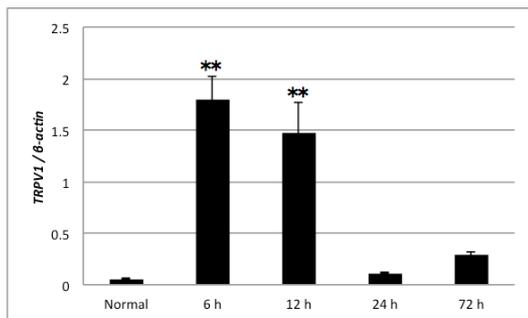


図6: TRPV1 mRNA 発現解析

## (3) 実験的歯の移動とPGIS、IP受容体およびTRPV1の関連について

過大な力を付与した実験的歯の移動時に、メカニカルストレスを契機として歯髄においてPGISの発現が上昇し、それに伴いPGI<sub>2</sub>発現も更新する可能性が示唆された。

さらに、歯髄における神経線維および象牙芽細胞に発現するIPによってTRPV1が活性化され炎症や疼痛に関与する可能性が示唆され、このような反応は24時間以内に亢進し、72時間では減少することが明らかとなった

た。

すなわち PGI<sub>2</sub> が感覚神経線維の IP 受容体と結合後、TRPV1 を感作し疼痛伝達に關与する経路が、実験的歯の移動による刺激によって歯髓で生じることが示唆された。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

#### [雑誌論文](計2件)

Ohkura M, Ohkura N, Yoshiba N, Yoshiba K, Ida-Yonemochi H, Ohshima H, Saito I, Okiji T. Orthodontic force application upregulated pain-associated prostaglandin-I<sub>2</sub>/PGI<sub>2</sub>-receptor/TRPV1 pathway-related gene expression in rat molars. *Odontology*. 2018 106(1):2-10.  
doi:10.1007/s10266-017-0309-2 (査読有)

Ohkura N, Edanami N, Takeuchi R, Tohma A, Ohkura M, Yoshiba N, Yoshiba K, Ida-Yonemochi H, Ohshima H, Okiji T, Noiri Y. Effects of pulpotomy using mineral trioxide aggregate on prostaglandin transporter and receptors in rat molars. *Sci Rep*. 2017 7(1):6870  
doi:10.10038/s41598-017-07167-y( 査読有)

#### [学会発表](計5件)

大倉麻里子, 大倉直人, 野杵由一郎, 丹原 惇, 藤田 瑛, 齋藤 功 矯正的歯の移動における prostaglandin I<sub>2</sub> 合成酵素の発現解析と3次元の応力集中分布解析 第76回日本矯正歯科学会大会プログラム・抄録集:183.2017

中田樹里, 柿原嘉人, 秋葉陽介, 江口香里, 丹原惇, 大倉麻里子, 加藤寛子, 泉健次, 佐伯万騎男, 齋藤功: ROCK 阻害剤の骨代謝および矯正学的歯の移動への影響. *新潟歯学会雑誌* 47(2):120,2017

大倉麻里子, 越知佳奈子, 齋藤功: 下顎骨軽度右方偏位を伴う Angle Class Ⅱ 叢生症例. 第32回甲北信越矯正歯科学会学術大会プログラム・抄録集:45,2017

大倉麻里子: 矯正力を付与されたラット臼歯における Prostaglandin I<sub>2</sub> 合成酵素、IP 受容体および TRPV1 の発現の変動:免疫組織化学的検索および遺伝子発現解析 *新潟歯学会雑誌* 46.1.2016

大倉麻里子, 大倉直人, 野杵由一郎, 齋藤 功 実験的歯の移動時におけるラット臼歯歯髓内 prostaglandin I<sub>2</sub> 合成酵素と IP 受容体の発現解析 第75回日

本矯正歯科学会大会プログラム・抄録集:208.2016

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

大倉麻里子 (OHKURA, Mariko)

新潟大学・医歯学総合病院・医員

研究者番号: 50779634