

令和元年6月27日現在

機関番号：14401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2017～2018

課題番号：17H06848

研究課題名(和文) S100A7が象牙質-歯髄複合体創傷治癒に与える影響の解明

研究課題名(英文) Temporo-spatial analysis of Protein S100-A7 during wound healing process of pulp tissue

研究代表者

小道 俊吾 (Komichi, Shungo)

大阪大学・歯学部附属病院・医員

研究者番号：40804456

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：歯髄傷害モデルにおいて、破綻した象牙芽細胞層に相当する部位の象牙質の脱灰と、同部歯髄組織中にS100A7の発現を認めた。歯髄創傷治癒過程においてS100A7の受容体であるRAGEと間葉系幹細胞マーカーであるCD146共陽性細胞の遊走も認められたことより、象牙質から放出されたS100A7がCD146・RAGE共陽性である歯髄幹細胞の走化性因子として働くことで歯髄創傷治癒の一端を担っていることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、先行研究にて歯髄創傷治癒に関与するタンパクとして同定されたS100A7の歯髄創傷治癒過程における生物学的機能の解明を念頭に、傷害後の歯髄におけるS100A7および関連タンパクの時間空間的局在パターンを詳細に検討することで、生物学的覆髄剤の開発につなげることを目的としている。本研究結果より傷害に反応して内因性に放出されるS100A7が歯髄創傷治癒の一端を担っていることが示唆された。過去の報告では歯髄幹細胞をRAGEリガンドで刺激することで石灰化を促進したという報告もあり、生物学的な覆髄剤に応用できるタンパクである可能性がある。

研究成果の概要(英文)：In damaged-pulp model, odontoblasts had detached from predentin and the width of the predentin-like low calcified dentin area was increased beneath the cavity. protein S100A7 was secreted at the border between predentin and separated odontoblasts on day 1. On day 7, accumulation of CD146-positive cells was observed around tertiary dentin. Notably, some of the CD146-positive area coincided with some of the RAGE-positive area. During the pulpal wound healing process in the damaged pulp model, recruitment of both RAGE and CD146-positive DPSCs suggested that released S100A7 plays an important role in recruitment of DPSCs via the S100A7/RAGE axis and the following tertiary dentinogenesis.

研究分野：象牙質-歯髄複合体

キーワード：歯髄創傷治癒 DAMPs

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

象牙質-歯髄複合体の創傷治癒のメカニズムは未だ不明であり、これを解明することで、より安全かつ効率の良い覆髄剤の開発が期待される。申請者らはこれまでに、歯髄創傷治癒メカニズム解明を目的として侵害刺激に対する歯髄反応に着目した研究をおこない、傷害を受けた歯髄における創傷治癒を促進する分子として、MMP20 により分解を受けた象牙質基質から遊離した Protein S100-A7 (S100A7) の同定に成功した。S100A7 は damage-associated molecular patterns (DAMPs) として自然免疫に関与しており、パターン認識受容体 (pattern recognition receptors: PRRs) を介して免疫細胞に作用し、細胞遊走およびサイトカイン産生を促進することで創傷治癒の初期反応である炎症および血管新生を促進することが知られている。そして、歯髄創傷治癒に重要な役割を果たす歯髄幹細胞表面には S100A7 に対応した PRRs である receptor for advanced glycation end product (RAGE) が発現していることから、傷害を受けた歯髄において、MMP20 の影響で周囲象牙質から遊離した S100A7 を歯髄幹細胞が認識することで、何かしらの応答性を持つ可能性があるが歯髄組織における S100A7 とその関連タンパクの動態については過去に報告がない。

本研究課題では、S100A7 の歯髄創傷治癒過程における生物学的機能の解明を念頭に実験をおこない、これらのタンパクの歯髄幹細胞に与える影響を詳細に検討することで、生物学的覆髄剤の開発につなげていきたいと考えている。

2. 研究の目的

本研究課題では、S100A7 の歯髄創傷治癒過程における生物学的機能の解明を念頭に実験をおこない、これらのタンパクの歯髄幹細胞に与える影響を詳細に検討することで、生物学的覆髄剤の開発につなげていきたいと考えている。

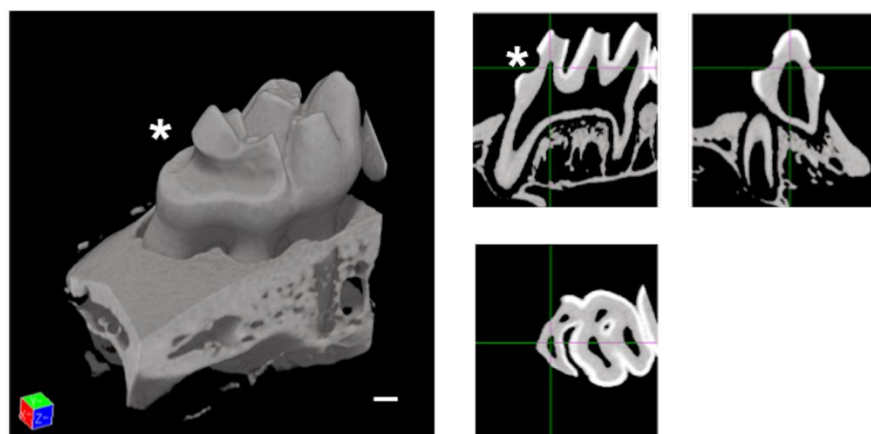
3. 研究の方法

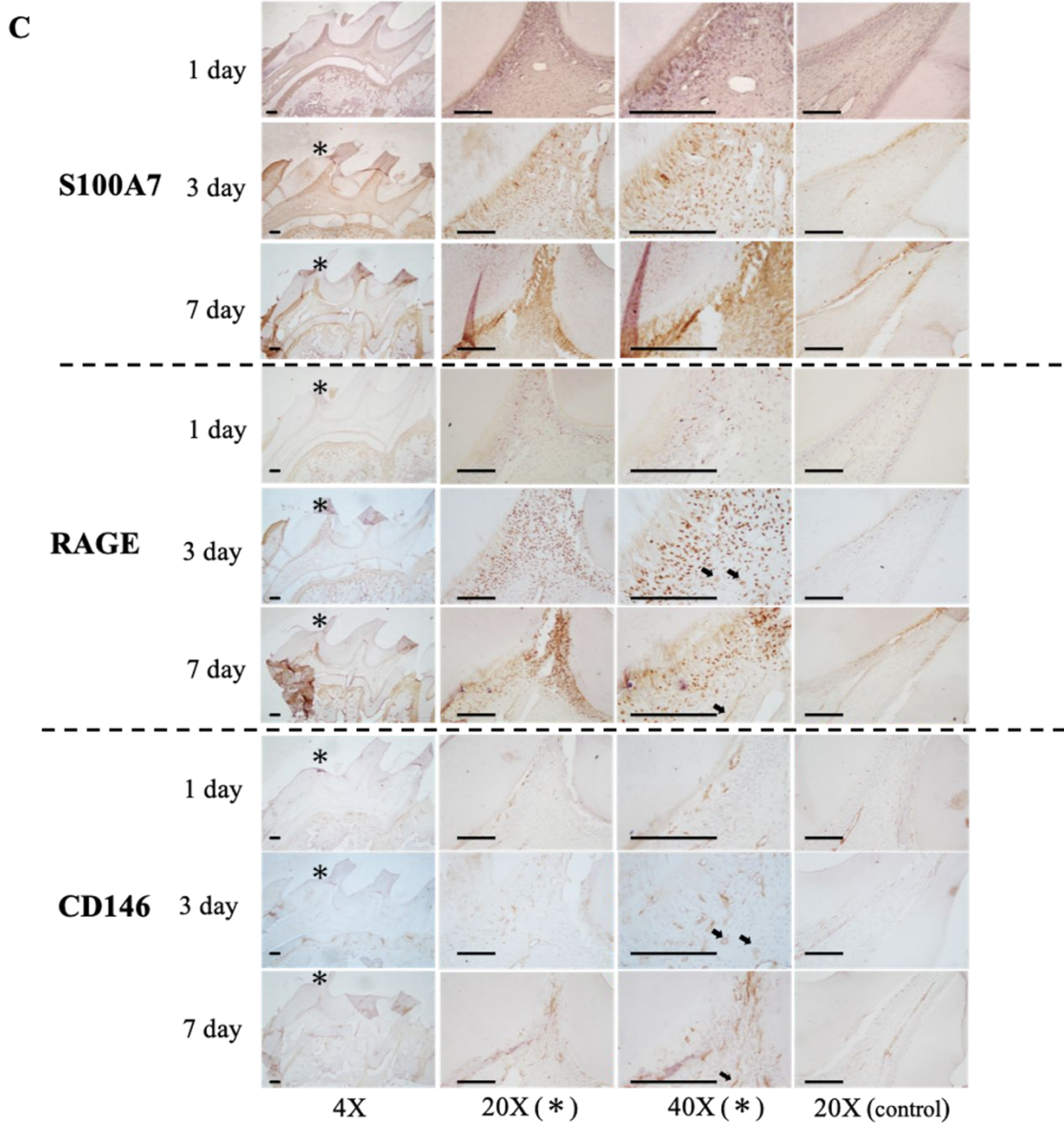
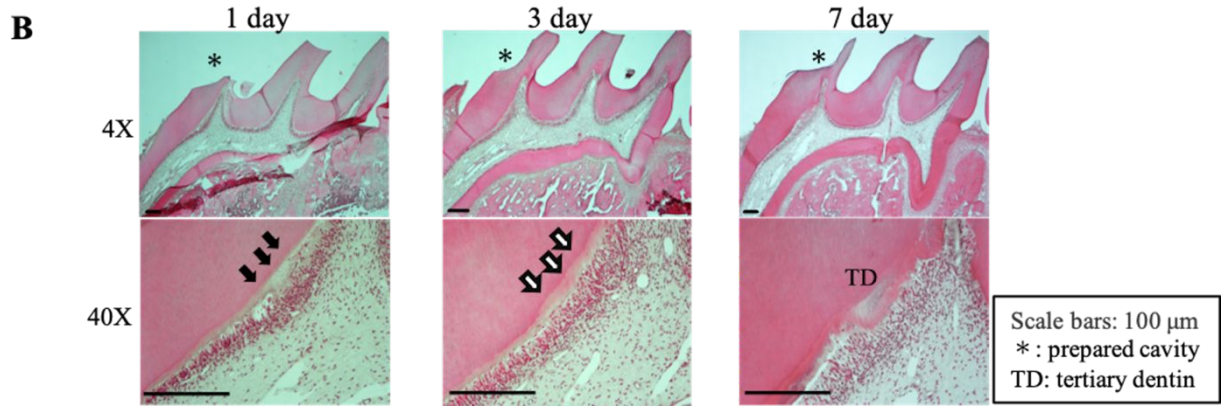
申請者がこれまでに歯髄創傷治癒作用を持つタンパクとして同定した S100A7 を応用し、生物学的根拠に基づく覆髄剤を開発するため、in vivo 歯髄傷害モデルにおいて S100A7 および関連タンパクと歯髄幹細胞の時間空間的局在を明らかにする。

5 週齢の雄性 Wistar 系ラットを用い、全身麻酔下で上顎第一臼歯の歯冠近心面に規格窩洞形成器にて象牙質の半分の深度に至る実験的窩洞を形成。窩洞形成後 1, 3, および 7 日後の窩洞直下における象牙芽細胞層の破壊から修復象牙質形成に至る歯髄創傷治癒過程を HE 染色及び免疫組織化学染色にて観察した。免疫染色の対象となるタンパクは、S100A7・receptor for advanced glycation end product (RAGE) および間葉系幹細胞マーカーとして知られる CD146 とした。

4. 研究成果

A





A: マイクロ CT を用いた窩洞形成深度の確認。象牙質の半分の深度に至る実験的窩洞が確認された。

B: 窩洞形成後の HE 染色像。窩洞形成 1 日後では、窩洞直下の象牙芽細胞層が象牙前質から剥離していた（黒矢印）。3 日後には象牙芽細胞層の再配列が認められ、窩洞直下の象牙質には象牙前質様の低石灰化領域の拡大が認められた（白矢印）。7 日後には修復象牙質形成が認められた。

C: S100A7, RAGE, および CD146 の免疫染色（窩洞形成されていない髄角をコントロール

ールとする)。窩洞形成1日後の窩洞直下歯髄において、象牙前質と剥離した象牙芽細胞層の間にS100A7の局在が認められた。3日後にはS100A7陽性細胞の集積が認められたが7日後には修復象牙質周囲の細胞外基質に局在していた。RAGE陽性細胞は窩洞形成3日後に強い集積が認められ、7日後には減少傾向が認められた。CD146陽性細胞は象牙芽細胞層近傍に等間隔に存在していたが、窩洞形成後から集積を開始し、7日後には修復象牙質周囲に局在が認められた。興味深いことに、CD146陽性細胞の一部はRAGEを共発現していた。

これらの結果から象牙質から放出されたS100A7がCD146・RAGE共陽性である歯髄幹細胞の走化性因子として働くことで歯髄創傷治癒の一端を担っていることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1件)

Okamoto Motoki, Takahashi Yusuke, Komichi Shungo, Cooper Paul R., Hayashi Mikako, Dentinogenic effects of extracted dentin matrix components digested with matrix metalloproteinases, Scientific Reports, 査読有, **8**, Article number: 10690 (2018)

〔学会発表〕(計 1件)

小道 俊吾, 高橋 雄介, 岡本 基岐, Manahil S. Ali, 渡邊 昌克, 林 美加子, 歯髄創傷治癒過程におけるProtein S100-A7の局在解析, 日本歯科保存学会2018年度春季学術大会

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

○取得状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：渡邊 昌克、Manahil Ali

ローマ字氏名：Watanabe Masakatsu, Manahil Ali

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。