

令和 2 年 6 月 8 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：2018～2019

課題番号：18H06325・19K21409

研究課題名(和文)免疫応答および骨代謝を賦活化させるバイオアクティブな次世代根管貼薬剤の開発

研究課題名(英文) Development of next generation bioactive root canal treatment that activates immune response and bone metabolism

研究代表者

成瀬 陽菜 (Naruse, Haruna)

大阪大学・歯学部附属病院・医員

研究者番号：60823515

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：先行研究より、骨のリモデリングにきわめて重要な働きをする Wnt シグナル伝達経路が日本人の根尖性歯周炎の疾患関連遺伝子であることがわかっている。本研究では、その機構を調べるため、Wnt シグナル伝達経路を活性化するリチウムクロライド(LiCl)を根管貼薬剤として根尖性歯周炎モデル動物を用いて解析した。LiCl貼薬群はコントロール群と比較して、根尖病変の治癒が促進しており、免疫の賦活化も生じていることが明らかとなった。将来的には、本研究の成果をもとにして、LiClを用いたシグナル伝達経路をターゲットにした骨形成および免疫の賦活化を行う、次世代根管貼薬剤の開発につなげていきたい。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、Wnt シグナル伝達経路を活性化するリチウムクロライド(LiCl)を根管貼薬剤として根尖性歯周炎モデル動物を用いて解析したところ、根尖病変の治癒の促進および免疫の賦活化も生じていることが明らかとなった。現在の根管貼薬剤では殺菌を行うものばかりであるが、根尖病変自体の治癒を促す根管貼薬剤をいうものは存在しない。本研究の成果をもとにして、バイオアクティブな次世代根管貼薬剤の開発につなげていきたい。

研究成果の概要(英文)：Recently, various disease-related genes have been identified by single nucleotide polymorphism (SNP). Previous studies have found that the Wnt signaling pathway, which plays a crucial role in bone remodeling, is a disease-related gene for apical periodontitis in Japanese. In this study, in order to investigate the mechanism, we analyzed lithium chloride (LiCl), which activates the Wnt signaling pathway, as a root canal patch in a model animal with apical periodontitis. It was revealed that the LiCl group promoted healing of apical lesions and activation of immunity compared with the control group. In the future, based on the results of this study, we hope that LiCl has potential as a novel therapeutic substance for periapical periodontitis by activating the Wnt signaling pathway.

研究分野：歯内療法学

キーワード：根管貼薬材 Wntシグナル経路

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ヒトゲノムプロジェクトにより、ヒトの全ゲノム配列が明らかになっていくうちに、個々のヒト遺伝子配列は異なることがわかってきた(1000塩基に1つの割合)。さらにその配列の違い(一塩基多型: single nucleotide polymorphism, SNP と呼ばれる)は、糖尿病や歯周病などさまざまな慢性疾患の発症と関連性があることが判明してきている。根尖性歯周炎については、欧米系や南米系の人種における関連遺伝子についての報告がある(Morsani JM *et al.*, *JOE*, 2011, Mnezes-Silva R *et al.*, *JOE*, 2012)。しかしながら、アジア系人種における報告はなかった。そこで、申請者らは、日本人における関連遺伝子を検索したところ、Wnt シグナル伝達経路に属する *LRP5* 遺伝子上の SNP が、根尖病変の形成と関連性があることを明らかにした(第146回日本歯科保存学会春季学術大会にて発表)。

ところで、Wnt シグナル伝達経路は、Wnt と *LRP5* が結合すると矢印で示す細胞内経路が活性化され核内に信号(シグナル)が伝わり、免疫応答や骨代謝を誘導する。根尖病変は、免疫応答に引きついて生じる骨代謝の偏りにより形成される。そこで、申請者らは実験動物をもちいた *in vivo* の実験系にて Wnt シグナル伝達経路の根尖病変形成への関与について解析した。その結果、Wnt シグナル伝達経路を遮断すると、根尖病変を増悪させる結果が得られた。この結果は、Wnt シグナル伝達経路を活性化すると根尖病変を治癒に導く可能性を示唆している。

一方、Wnt シグナル伝達経路を活性化する薬剤として LiCl (lithium chloride) が広く知られている。そこで、Wnt シグナル伝達経路を活性化する薬剤 (LiCl) を根管貼薬剤として用いた場合、根尖病変を治癒へと導くのだろうか? この問いを究明することで、免疫・骨代謝応答を賦活化するバイオアクティブな次世代根管貼薬剤の開発を目指した。

2. 研究の目的

これまでの根管治療は、根管清掃や水酸化カルシウム貼薬などにより起炎細菌の除去に焦点が当てられており、大きな根尖病変への対応には限界があり、歯根端切除術に代表される外科的歯内療法への適応となっている。それに対し、本研究は、宿主細胞内シグナル伝達経路(Wnt シグナル伝達経路)をターゲットにしたバイオアクティブな根管貼薬剤により、免疫・骨代謝を賦活化し、治癒を促進することを狙っている。侵襲性の高い外科的処置を回避できる症例を増やすことで、超高齢社会において、増え続ける全身疾患を抱える高齢者に対し、非常に大きなメリットをもたらすものであると考えている。

3. 研究の方法

Wnt シグナル伝達経路を活性化する LiCl の根管貼薬剤としての評価実験

Wnt シグナル伝達経路を特異的に活性化する LiCl を根管貼薬剤として貼薬し、形成された根尖病変の体積の変化について解析する。

(1) LiCl を根管貼薬剤として用いた場合の病変体積変化の計測

8週齢の Wistar 系ラットを全身麻酔下にて、臼歯を 1/4 ラウンドバーにて天蓋除去を行った後、#8 の K ファイルを用いて根尖の破壊を行う。

根尖病変の体積が最大の時点(3週目)で、根管をマイクロスコプ下にて、#10 の K ファイルを用いて根管を清掃する。

根管内清掃後，1%，6%，12% LiCl 配合根管貼薬剤を貼薬した群と非 LiCl 貼薬群に対して，経時的に μ CT 撮影を行い，根尖病変体積を算出して 3 次元的评价を行う。

(2) 病理組織学的評価

上記実験に供したラットを 10% パラホルムアルデヒドにて還流固定した後，下顎骨を採取し，10% EDTA 溶液による脱灰，パラフィンへの包埋を行う。その後，厚さ 9 μ m の薄切切片を作製し，Hematoxylin - Eosin 染色法をおこない，根尖周囲組織の状態を観察し，評価する。

4 . 研究成果

(1) LiCl を根管貼薬剤として用いた場合の病変体積変化の計測

8 週齢の Wistar 系ラットの下顎左側第一大臼歯を露髄させ，根尖病変の体積が最大の時点（3 週目）で，根管内を清掃し、根管内に LiCl 濃度を変えた貼薬材を貼薬した。全ての群において根尖病変の体積の縮小を認めた。

(2) 病理組織学的評価

HE 染色では，両群において線維芽細胞や血管新生を認めたことから，肉芽組織が形成されていることがわかった。また，非貼薬群では根尖病変内に結合組織の新生が認められることから慢性炎症が生じていることが推測され，歯根肉芽腫の形成途上段階と認められる像が認められた。貼薬群では，根尖病変の縮小傾向を認めた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 成瀬陽菜、伊藤祥作、伊藤勇紀、鍵岡琢実、林 美加子
2. 発表標題 Wnt/ -catenin シグナル伝達経路による根尖病変制御機構の解折
3. 学会等名 第148回日本歯科保存学会春季学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 H. NARUSE, S. ITOH, M. HAYASHI
2. 発表標題 Wnt Signaling Pathway Associates with Healing of Periapical Periodontitis
3. 学会等名 4th meeting of the IADR APR 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019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