

出國報告(出國類別：進修)

消退素 E1(Resolvin E1)對實驗型牙髓炎  
中軸抑制蛋白 2 標記(Axin2<sup>+</sup>)之  
牙髓幹細胞的作用

服務機關：國防醫學院三軍總醫院

姓名職稱：吳右喬、主治醫師

派赴國家/地區：美國波士頓

出國期間：108 年 6 月 29 日至 112 年 5 月 29 日

報告日期：112 年 6 月 8 日

## 摘要

牙髓炎為一常見之口腔疾病，其成因包含齲齒、牙齒外傷等，其主流之治療方式為非手術性根管治療 (Non-surgical root canal therapy)，然而此療法有諸多限制，近年來由於再生醫學的興起，活髓治療 (Vital pulp therapy) 或是再生式牙髓治療 (Regenerative endodontics) 成為熱門的研究領域，也被視為相關疾病未來的治療方向。職為三軍總醫院牙科部牙髓病科主治醫師，於專科住院醫師訓練期間即對此領域有濃厚興趣，很幸運在三總完成專科訓練並取得國防醫學院牙醫學系講師資格之後，獲得國防部軍醫局補助並核准於民國 108 年至 112 年赴美國哈佛大學牙醫學院博士學程進修，此次進修在國際知名學者 Thomas E. Van Dyke 教授的指導之下，應用具前瞻性的細胞譜系追蹤 (Lineage tracing) 動物模型，研究消退素 E1 (Resolvin E1) 在實驗型牙髓炎與軸抑制蛋白 2 標記 (Axin2+) 之牙髓幹細胞的作用。在進修期間，職除了增進專業領域的相關知識，也學習到在世界一流頂尖研究機構的工作態度，並對追求學問的真理有更深一層的認識，期許自己在返回母校國防醫學院後，貢獻一己之力，將國外所學得的知識與經驗傳承給學弟妹。

# 目次

目的.....	4
過程.....	5
論文簡介.....	8
心得與建議.....	9

# 本文

## 目的

齲齒是全世界盛行率最高的疾病之一，在造成不可逆性傷害之前，通常沒有明顯的症狀。然而齲齒若在未經介入治療的情況下發展，它們會變成深度齲齒，並進一步從牙本質滲透到牙髓中。由於牙髓組織處於封閉空間，當暴露於外界因素如微生物感染或機械刺激將導致牙髓炎。此時，若是沒有經過適當的治療，牙髓炎可能進一步發展為牙髓壞死並發展為根尖周圍炎。目前非手術根管治療（Non-surgical root canal therapy）是不可逆牙髓炎的主要治療方法。雖然目前的文獻顯示，80%-90%的長期成功率是可預期的，但根管治療過程中移除了部分的齒質使得結構變得較為脆弱，因此理想的治療目標是為牙髓再生（Dental Pulp regeneration）。消退素（Resolvins）是一種衍生自 omega-3 不飽和脂肪酸的特定促修復介質（Specialized pro-resolving mediators）。Resolvin E1（RvE1）已被證明可促進牙髓修復，為了進一步探索其在牙髓炎治療與牙髓再生的潛力，我們研究了 RvE1 對具螢光標記牙髓幹細胞的小鼠牙髓炎模型的作用。

軸抑制蛋白 2（Axis inhibition protein 2, Axin 2），為一功能性幹細胞標記，Axin2 表達細胞在許多組織中已被證明是幹細胞，例如子宮內膜 (Syed et al., 2020) 和口腔粘膜 (Yuan et al., 2019)，並在牙齒發育的過程中 (Lohi, Tucker, & Sharpe, 2010) 扮演重要的角色，除此之外，Axin2 表達細胞對於成牙本質細胞成熟、修復性牙本質形成和損傷後類牙本質母細胞再生至關重要 (Babb, Chandrasekaran, Carvalho Moreno Neves, & Sharpe, 2017)。因此，我們使

用 Axin2 螢光標記小鼠來研究 RvE1 對牙髓幹細胞的作用，希望能藉此研究進一步了解牙髓再生的相關機制，並對牙髓炎的臨床治療做出貢獻。此次榮幸獲得國防部軍醫局的核准與補助，得以前往美國哈佛大學牙醫學院博士學程進修，學習最前沿的研究領域，學業修畢之後將返回母校國防醫學院擔任牙醫學系牙髓病學門教師，將國外所學傳承給國內學子。

## 過程

本次進修學程為口腔生物學醫學科學博士 (Doctor of Medical Sciences in Oral Biology, DMSc)，此學位學程已在哈佛牙醫學院實行多年，培育出無數有名的醫師科學家，現任的牙醫學院院長 Dr. William V. Giannobile 也是口腔生物學醫學科學博士學位的校友 (DMSc '98)。哈佛牙醫學院成立於西元 1867 年，是全美第一所大學所開設的牙醫學院，其位置與哈佛醫學院、哈佛公共衛生學院同一校區，座落在波士頓的長木醫學區 (Longwood medical area)。牙醫學院除了本身的研究量能之外，也與位於劍橋的福賽斯研究所 (The Forsyth Institute) 簽有合作協議。福賽斯研究所創建於 1910 年，由 Thomas Alexander Forsyth 博士所設立，創建之初位於波士頓的芬威 (Fenway-Kenmore) 地區，鄰近波士頓美術博物館 (Museum of Fine Art)。福賽斯研究所是波士頓地區第一個提供兒童牙科醫療照護的醫務中心，之後為了紀念 George Henry Forsyth 和 James Bennett Forsyth 兄弟，Dr. Thomas Alexander Forsyth 和 John Hamilton Forsyth 於 1914 年創建福賽斯兒童牙科醫院。福賽斯研究所於 2010 年搬遷到一河之隔的劍橋市，緊鄰肯德爾廣場 (Kendall square) 與麻省理工學院 (Massachusetts Institute of Technology)，此處為全球生醫產業重鎮，以 mRNA 疫苗技術聞

名的莫德納公司（Moderna）總部便座落於此。截至目前為止，福賽斯研究所是全美唯一的口腔醫學獨立研究機構，許多口腔醫學領域的重大發現皆開創於此。我非常幸運地有機會加入了哈佛牙醫學院和福賽斯研究所。

在博士學程的第一年與第二年，必須修習基礎醫學必修及選修課程，在哈佛大學課程的選擇非常靈活，每個學生都可以找到適合自己興趣的相關課程。以我為例，為了加強再生醫學與幹細胞研究的知識，我修了數門生物學課程，其中印象最深的是幹細胞研究與臨床治療學，由國際知名的 Leonard Zon 博士和哈佛醫學院 George Daley 院長授課，他們都是傑出的臨床醫生和世界級的科學家。在課堂上，我學習了尖端的再生研究和撰寫 NIH 格式的研究提案，雖然這是一門非常具有挑戰性的課程，但我很高興自己選擇了它。此外，為了增進自己的教學能力，我還參加了教學實作 101 課程，了解教授學生的原理和各式教學技巧，在修習教學實作 101 課程中，我對教導學生有了更全面的了解，並獲得了一些激勵學生的技巧，除了修習這門課之外，我也自願擔任顱面發育與遺傳學課程助教，協助講師帶領牙醫學生進行臨床病例討論，在擔任助教的過程中，我嘗試應用在教學實作 101 課程中所學習到的教學方式，牙醫學生的反應與回饋都相當熱烈，並表達他們在我的引導之下學習到很多相關的專業知識。

關於博士課題的研究計畫，我很高興能加入 Van Dyke 博士在 Forsyth 的實驗室。Van Dyke 博士是 Forsyth Institute 的副主席（Vice President）及哈佛牙醫學院教授，是一位享譽國際的研究者，SCI 文章發表超過五百篇。在他的指導之下，並結合我之前的牙髓病專業，

我們一同設計研究題目，在多次的來回討論之後，我們最後決定執行應用譜系追蹤技術的牙髓炎模型作為我的主要研究課題。在實驗室學習的期間，Van Dyke 博士讓我學會如何正確地提出一個科研想法，並轉化成文字提案，在他的悉心指導之下，我幸運地贏得了校內的 Krakow Research Fund（圖一），得以部分贊助我的博士研究課題。對於我們的實驗室來說，之前並沒有飼養此種品系的小鼠，也沒有操作此類技術的經驗，因此對於 Van Dyke 博士與我都是一個新的挑戰，在一開始撰寫動物實驗申請書與 IACUC 協議時，我們花來很多時間和動物福祉委員會溝通，在漫長的修改過程中，Van Dyke 博士與 Kantarci 博士不厭其煩地指導我適當地回答委員會提出的問題與建議，最後批准得以進行此研究計畫。

在結束一二年級必修與選修的要求學分之後，於二年級學期末進行博士資格考試，考試內容不限於自己的研究課題，因此在準備的過程中備感壓力，不確定口試委員會不會天馬行空地提出各種不同的想法予以討論，所幸在廣泛閱讀文獻的準備之後能順利通過，並進行研究計畫執行。在執行研究工作的過程中，必須定期與諮詢委員會報告研究進度，在完成足夠的實驗成果之後，由諮詢委員會核准得以申請提出博士論文答辯，博士論文答辯委員會很榮幸邀請到 Kantarci 博士、Hasturk 博士以及特定促修復介質（Specialized pro-resolving mediators, SPMs）的發現人 Charles Serhan 博士，他目前發表超過 800 篇的 SCI 文章，除此之外也邀請了哈佛牙醫學院院長 William Giannobile 博士擔任口試委員，在答辯的過程中，委員們提出很多寶貴的見解以及提供未來繼續研究的方向，最後由委員投票順利通過博士論文答辯（圖二）。在畢業前的一個月，牙醫學院舉辦了畢業生研究發表日，所有的牙醫學生

以及研究生（含碩、博士生）必須以海報貼式報告介紹自己的研究課題（圖三），而我的研究課題很幸運的獲選為博士最佳論文之一（圖四）。這趟旅程的最後，哈佛大學 2023 年（Class of 2023）所有的畢業生齊聚在歷史悠久的哈佛庭院（Harvard Yard），由校長 Lawrence Bacow 博士授予畢業生學位（圖五），從哈佛大學畢業後，我回到母校國防醫學院牙醫學系投身於牙科教育與研究工作，旨在為母校及醫界做出有價值的貢獻（圖六）。

## 論文簡介

非手術行根管治療是不可逆牙髓炎的主要治療方法，治療上有其限制，由於術式操作時必須移除部分的齒質，結構將變得較為脆弱。為了克服此項限制，理想的治療目標是為牙髓再生。特定促修復介質（SPM）以消炎而著稱。炎症的消退和組織恢復或再生是一個動態和連續的過程。SPM 不僅具有強大的免疫調節功能，而且還能有效促進組織穩態和再生。消退素（Resolvins）已被證明可以促進牙髓再生。本研究的目的是進一步探索 Resolvin E1 (RvE1) 療法在牙髓再生中的細胞來源以及 RvE1 在受感染牙髓中的影響。我們 Axin2<sup>Cre-Dox</sup>;Ai14 基因定義的小鼠模型中研究了 RvE1 對實驗暴露牙髓的影響。我們的研究結果表明，RvE1 在小鼠直接蓋髓後促進 Axin2-tdTomato<sup>+</sup> 細胞擴增和成牙本質細胞分化，我們在臨床上用它來模擬可逆性牙髓炎病例。在培養的小鼠牙髓幹細胞 (mDPSCs) 中，RvE1 促進了 Axin2-tdTomato<sup>+</sup> 細胞增殖和成牙本質細胞分化，並且還挽救了 LPS 刺激後受損的功能。在模擬不可逆性牙髓炎治療的模型，我們刻意將牙髓暴露於口腔環境中 24 小時，發現 RvE1 對牙髓再生的貢獻有限，但 RvE1 抑制炎症浸潤，減少根管內的細菌侵入，並防止根



尖周炎的發展。總體來說，應用 RvE1 的局部治療通過促進表達 Axin2 的細胞增殖和分化來促進牙髓再生的特性。而在不可逆性牙髓炎的模型中，它調節炎症的消退，降低感染的嚴重程度，並進一步預防牙根尖周圍炎。因此，RvE1 的綜合優勢支持進一步研究使用作為治療牙髓病的新型療法。

## 心得與建議

感謝國防部與母校及醫院的支持，使得我能有機會進入哈佛大學進修博士學位，因而能在人文薈萃的波士頓生活將近四年，在這段期間，我見到了許多來自世界各地的研究者，雖然大家說的英文都帶有不同的口音，但大家對研究學習的熱情都是一致的，無論是在實驗室或是餐廳，大家都能對自己的研究侃侃而談，互相激盪出更多創新的想法並同時尋求合作的機會，在經歷過這樣環境的訓練，也期許自己能將這樣的風氣帶回學校，與學系、學校的老師或是與國際相關領域的研究者進行更多項目的合作，推動領域的進步。



May 9, 2022

Dear Dr. Yu Chiao Wu,

On behalf of the committee, I am pleased to let you know that you have received a research award from the Alvin Krakow Harvard/Forsyth Research Fund in the amount of \$10,837 for your project entitled "Determination of the cellular source for pulp regeneration induced by RvE1 treatment." The committee looks forward to hearing about the results of this exciting work. A progress report should be submitted at the completion of the project, including an accounting of the purchases made on the project. The final report should also include plans for or dissemination of the research including publications and conference presentations. Please acknowledge the funding source as the "Alvin Krakow Harvard/Forsyth Research Fund." These funds are to be used for costs directly related to the research project. Please submit the IACUC approval appropriate to this research to begin utilizing the funds. Also, \$1000 will be available for you to use for travel expenses to conferences presenting your research.

In the case that you receive other funding for this research, or do not need the budgeted funds, it is expected that the unused portion of this award will be returned to the Krakow Harvard/Forsyth Research Fund.

Congratulations!  
Jennifer Gibbs

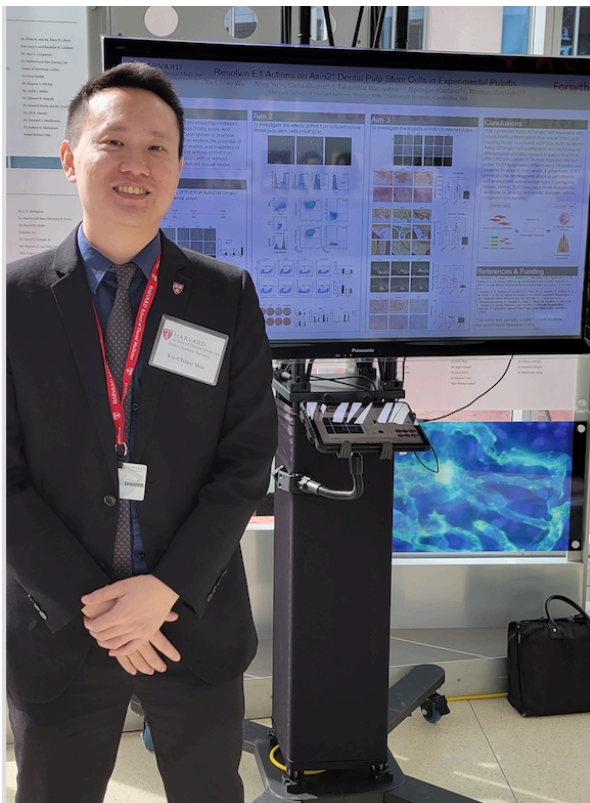
Jennifer Lynn Gibbs MAS, DDS, PhD  
Assistant Professor  
Director of the Division of Endodontics  
Director of Advanced Graduate Endodontics  
Harvard School of Dental Medicine  
188 Longwood Avenue  
Boston, MA 02446  
Jennifer\_gibbs@hsdm.harvard.edu

188 Longwood Avenue Boston, MA 02115 TEL: 617.432.4249 FAX: 617.432.0901 jennifer\_gibbs@hsdm.harvard.edu



圖一、Krakow Research Fund 得獎信函

圖二、與導師及論文答辯委員會委員合照



圖三、參加 Student Research Day 海報貼示



圖四、研究課題獲選為博士最佳論文之一



圖五、參加舉辦於 Harvard Yard 之畢業典禮 圖六、112 年 6 月 8 日於牙髓病科分享進修心得

## 參考書目

- Babb, R., Chandrasekaran, D., Carvalho Moreno Neves, V., & Sharpe, P. T. (2017). Axin2-expressing cells differentiate into reparative odontoblasts via autocrine Wnt/ $\beta$ -catenin signaling in response to tooth damage. *Sci Rep*, 7(1), 3102. doi:10.1038/s41598-017-03145-6
- Lohi, M., Tucker, A. S., & Sharpe, P. T. (2010). Expression of Axin2 indicates a role for canonical Wnt signaling in development of the crown and root during pre- and postnatal tooth development. *Dev Dyn*, 239(1), 160-167. doi:10.1002/dvdy.22047
- Syed, S. M., Kumar, M., Ghosh, A., Tomasetig, F., Ali, A., Whan, R. M., . . . Tanwar, P. S. (2020). Endometrial Axin2(+) Cells Drive Epithelial Homeostasis, Regeneration, and Cancer following Oncogenic Transformation. *Cell Stem Cell*, 26(1), 64-80.e13. doi:10.1016/j.stem.2019.11.012
- Yuan, X., Xu, Q., Zhang, X., Van Brunt, L. A., Ticha, P., & Helms, J. A. (2019). Wnt-Responsive Stem Cell Fates in the Oral Mucosa. *iScience*, 21, 84-94. doi:10.1016/j.isci.2019.10.016