

ふりがな氏名	ほう いちごう 彭 一豪
学位の種類	博士（歯学）
学位記番号	甲 第968号
学位授与の日付	令和5年3月3日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項に該当
学位論文題目	The extracts of mesenchymal stem cells induce the proliferation of periodontal ligament cells (間葉系幹細胞抽出物は歯根膜細胞の増殖を誘導する)
学位論文掲載誌	Journal of Osaka Dental University 第57巻 第1号 令和5年4月
論文調査委員	主査 梅田 誠 教授 副査 沖永 敏則 教授 副査 橋本 典也 教授

#### 論文内容要旨

間葉系幹細胞（MSC）を用いた歯周組織再生治療が広く研究されている。しかし、その再生メカニズムについては完全に解明されていない。

本研究では、歯根膜由来細胞における MSC 抽出物の細胞増殖への影響を検討した。不死化ヒト骨髄間葉系幹細胞(UE7T-13, 理研バイオリソースセンターより入手), 歯根膜細胞 periodontal ligament cells (PDLcs, Lonza より購入) を培養し実験に使用した。凍結溶解の3回サイクルによって細胞から抽出物を回収し, BCA 法を用いてタンパク量を測定した。細胞増殖の検討には WST-8 法と KI67 法を用いた。タンパクの抽出はアセトン沈殿を用いて行った。MSC 抽出物 (MSC-extract) はタンパク濃度依存的に歯根膜細胞の増殖を促進した。MSC-extract を 65°Cにて処理した後, PDLcs に作用させたところ, MSC-extract による細胞増殖活性が消失した。さらに, タンパク合成阻害剤 Cycloheximide (CHX) を作用させた間葉系幹細胞 UE7T-13 より回収した抽出物においても, PDLcs の増殖活性が観察されなかった。また, アセトン沈殿を用いて MSC-extract より回収したタンパク成分で PDLcs を処理すると, タンパク濃度依存的に PDLcs の増殖が亢進した。

以上の結果より, MSC-extract は含まれるタンパク成分を介して PDLcs の増殖を促進する事が示された。本研究は間葉系幹細胞抽出物が歯根膜細胞の増殖を促進することを示し, この結果は間葉系幹細胞による歯周組織再生メカニズムの一部を説明するかもしれない。MSC による PDLcs の増殖促進について新たな知見を提供するものである。将来的には, 歯周病治療の新たなアプローチの基礎となる可能性がある。

## 論文審査結果要旨

歯周病は歯周組織の慢性炎症性疾患であり、進行した歯周病では著しい支持組織の破壊から罹患歯の喪失をもたらす。歯根膜は歯と歯槽骨の間に存在する軟組織であるが、歯根膜由来細胞の増殖、遊走が歯周組織の創傷治癒、再生に重要な役割を持つことが知られている。また、近年、間葉系幹細胞（MSC）を用いた組織再生が注目されており、歯周組織欠損へ MSC を移植することによって歯周組織が再生されることも明らかとされている。著者は、MSC を用いた歯周組織再生治療の開発を目指し、本研究において間葉系幹細胞抽出物(MSC-extract)による歯根膜細胞（PDLcs）の細胞増殖への影響を検討した。

不死化ヒト骨髄間葉系幹細胞および歯根膜線維芽細胞を培養し実験に用いた。MSC-extract は培養した MSC から 3 回の凍結溶解サイクルによって抽出し、タンパク濃度を BCA 法にて測定した。細胞増殖の検討には WST-8 法および Ki67 の免疫染色法を使用した。

MSC-extract を PDLcs に作用させたところ、MSC-extract はタンパク濃度依存的に PDLcs の増殖を亢進させた。また、MSC-extract を 65℃にて加熱処理すると、PDLcs に対する MSC-extract の細胞増殖活性は著しく減少した。さらに、タンパク合成阻害剤である Cycloheximide を作用させた MSC から回収した MSC-extract においても、PDLcs の増殖活性が減少することが明らかとなった。

以上より、MSC-extract が含まれるタンパク成分を介して PDLcs の増殖を促進することが示された。本研究は MSC-extract が PDLcs の細胞増殖を促進する作用を持つことを示し、間葉系幹細胞による歯周組織再生メカニズムの一部を説明し、さらには MSC-extract を用いた新規歯周治療開発につながる有益な結果を示していると考えられる。よって、本論文の内容は博士（歯学）の学位を授与するに値するものと判定した。