

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（歯学）	氏名	大堂 綾香
学位授与の条件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論文題目 Stem cells derived from human exfoliated deciduous teeth-based media in a rat root resorption model (ヒト乳歯歯髓由来幹細胞の培養上清が歯根吸収モデルラットに及ぼす影響)			
論文審査担当者			
主査	教授 二川 浩樹 印		
審査委員	教授 加藤 功一		
審査委員	教授 加治屋 幹人		
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>【緒言】</p> <p>矯正歯科治療は、歯周組織の骨改造現象を利用して歯を移動させるが、生じる医原性障害の一つとして歯根吸収が挙げられる。歯根吸収は、臨床症状を伴うことなく進行し、治療の中断を余儀なくされ、治療後の安定性に大きな影響を及ぼす。しかしながら、吸収した歯根を修復・再生させる治療法は未だ確立されていない。</p> <p>ヒト乳歯歯髓由来幹細胞 (stem cells from human exfoliated deciduous teeth: 以下; SHED) は、2003 年に初めて乳歯から単離された。侵襲を伴うことなく幹細胞の入手が可能であり、骨芽細胞、脂肪細胞、軟骨細胞、神経細胞への多分化能を有することより、組織の修復作用が報告されている。近年、間葉系幹細胞 (MSCs) が分泌するサイトカインのパラクライン作用が注目されている。MSCs の培養上清 (Condition media: 以下; CM) は MSCs から分泌された細胞成長因子やサイトカインを含有することが報告されており、MSCs-CM を用いた組織再生誘導作用が示唆されている。以前の頭蓋骨骨欠損免疫不全マウスを用いた研究において、SHED と SHED の細胞上清 (以下; SHED-CM) の添加は、骨再生能を有することを解明した。しかしながら、SHED-CM の添加が、矯正学的歯の移動によって惹起された歯根吸収や歯周組織の炎症に対して、どのような影響を及ぼすかは、未だ明らかにされていない。</p> <p>そこで、本研究では、SHED-CM が矯正学的な歯の移動によって惹起される歯根吸収の発現と歯周組織の炎症に及ぼす影響について検討することとした。</p> <p>【試料および方法】</p> <p>矯正歯科治療の必要性から抜去された乳歯の歯髓より、SHED を単離・培養した。80%コンフルエント到達の後、FBS 濃度 0 %の培地に交換し、48 時間後に SHED-CM を回収した。その後、8 週齢の SD 雄性ラットに対して、矯正歯科用クローズドコイルスプリングを用いて、ラット第一臼歯を過度な矯正力 (50 g) にて牽引し、歯根吸収モデルを作製した。牽引開始 1 日後および 7 日後に SHED-CM を尾静脈より投与した。一方、対照群には α-MEM を投与した。矯正学的歯の移動 14 日後にマイクロ CT を撮影し、歯の移動距離について解析した。実験期間中はラットの体重変化を経時的に測定した。ラットを屠殺し、上顎骨を摘出後、脱灰・固定を行い、組織切片を作製した。組織切片にて、圧迫側の歯根吸収面積について検討を行った。また、免疫組織化学染色を行い、圧迫側および牽引側における OPG、RANKL、TNF-α、IL-1β、IL-6、IL-17 の発現について、BZ-X Analyzer ソフトウェアおよびハイブリッド細胞カウントアプリケーションを用いて、それぞれの陽性面積率を解析した。そし</p>			

て、TRAP 染色を行い、圧迫側における TPAP 陽性細胞数の算出を行った。

【結果】

実験期間中、対照群と SHED-CM 投与群の間で体重の有意な差を認めなかった。

実験的な歯の移動時において、第一臼歯の移動距離は、SHED-CM 投与群と対照群間に有意な差を認めず、歯根吸収面積は有意に小さい値を示した。免疫組織化学染色による検証において、SHED-CM 投与群の第一臼歯圧迫側では、対照群と比較して、約 10 倍以上の OPG 発現の有意な亢進を認めた。一方、RANKL 発現の有意な抑制が確認された。そして、SHED-CM 投与群は、対照群と比較して、炎症性サイトカインである TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、および IL-17 の有意な発現の抑制が認められた。牽引側の検討において、SHED-CM 投与群は、対照群と比較して、有意な OPG 発現の亢進と RANKL、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、および IL-17 発現の有意な抑制を示した。さらに、TRAP 染色による検討において、SHED-CM 投与群は、対照群と比較して、TRAP 陽性細胞数の有意な減少が示された。

【結論】

実験的な歯の移動を行った歯根吸収モデルにおいて、SHED-CM の投与は、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-17 の炎症性サイトカイン発現を低下させ、RANKL、および OPG の発現に影響を及ぼし、破骨細胞の分化を抑制させることで、歯根吸収が抑制される可能性が示唆された。

以上の結果から、本論文は SHED-CM の投与が炎症性サイトカインの発現を抑制させ、RANKL の発現と破骨細胞への分化を抑制させることが示唆された。SHED-CM が RANKL/OPG システムの制御に影響を及ぼし、それに伴う歯根吸収を抑制させる可能性を示した有用な研究データを提供した。そのため、矯正歯科学や関連歯科医学の発展に寄与する点が大きいと高く評価される。

よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士（歯学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。