

論文審査の要旨および担当者

愛知学院大学

報告番号	① 乙 第 号	論文提出者名	竹内 教雄
論文審査 委員氏名	主査 副査	中村 洋 千田 彰 前田 初彦	
論文題名	歯髄再生治療法における遊走因子 bFGF の検討		

インターネットの利用による公表用

幹細胞移植による歯髄再生は、歯髄炎または根尖性歯周炎の治療のための有望なアプローチであり、歯の寿命を伸ばし、QOLの改善に役立つと考えられる。すでに、Ioharaらは、歯髄膜分取細胞(MDPSCs)をgranulocyte-colony stimulating factor(G-CSF)とともに移植することによって歯髄を完全に再生することに成功している。その再生機序としては、G-CSFによる周囲組織の幹細胞の遊走、増殖促進効果、抗炎症作用、抗アポトーシス作用、血管新生促進作用および神経突起伸長効果が報告されている。一方、basic fibroblast growth factor(bFGF)は歯髄幹細胞に対して、*in vitro*における遊走促進作用、増殖促進作用、血管新生作用を有し、線維芽細胞に対して抗アポトーシス作用が知られている。そこで、本研究では、*in vitro*および*in vivo*におけるbFGFの効果とG-CSFと比較し、歯髄再生治療に用いる最適な遊走因子を検討している。

そこで、以下の実験を行っている。

実験1. *in vitro*における遊走因子の効果

歯髄再生の機序として、遊走因子は移植細胞のアポトーシスを抑制し、歯周組織から在来の幹細胞を根管内に遊走させ、増殖、アポトーシスを抑制し、さらに血管新生、神経突起伸張、象牙質再生を促すことが知られている。したがって、最初に*in vitro*において、遊走、増殖、抗アポトーシス、血管内皮細胞分化、神経突起伸張および象牙質誘導作用に対するbFGFおよびG-CSFの作用を比較検討している。なお、細胞はヒト歯髄膜分取幹細

胞 (MDPSCs)、ヒト歯根膜線維芽細胞 (PdLF)、骨髄由来間葉系幹細胞 (BW)、ヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (HUVEC) およびヒト神経芽細胞腫 (TGW) を使用している。

実験 2. 歯髄再生

ブタの歯根を長さ 6 mm に切断し、直径 1 mm 幅に拡大し、片側を封鎖して、その中に、それぞれ歯髄膜分取細胞、bFGF および G-CSF をコラーゲン TE と混合して根管内に注入した。これらを SCID マウスに皮下移植して、歯髄再生を検討している。

実験 3. 再生歯髄組織の遺伝子解析

再生歯髄組織から RNA を抽出して、歯髄のマーカーである *TRH-DE*、象牙芽細胞のマーカーである *enamelysin* を Real-time RT-PCR にて解析している。

これらの実験で以下の結果を得ている。

1) 遊走促進作用

TGW 以外の細胞で bFGF および G-CSF による遊走促進作用が認められた。なお、両者には有意差は認められなかった。

2) 細胞増殖促進作用

すべての細胞で bFGF および G-CSF による細胞増殖作用がみとめられ、両者には有意差は認められなかった。

3) 抗アポトーシス作用

すべての細胞で bFGF および G-CSF による抗アポトーシス作用がみとめられ、両者には有意差は認められなかった。

4) 血管内皮細胞分化促進作用

血管内皮細胞分化促進作用に関して、血管誘導培地に bFGF および G-CSF を添加することにより、分化促進が認められた。また、管腔形成量においては、両者に有意差は認められなかった。

5) 神経突起伸張促進作用

神経突起伸張促進作用について、glial cell line derived neurotrophic factor (GDNF) に bFGF および G-CSF を添加すると伸張促進作用があり、両者には有意差は認められなかった。

6) 石灰化の促進作用

象牙質誘導促進誘導条件下において、誘導培地に G-CSF を添加すると石灰化の促進が認められたが、bFGF では認められなかった。

7) 歯髄再生作用

SCID マウスに移植した際の bFGF および G-CSF による歯髄再生を比較したところ、両者には有意差は認められなかった。

結論として歯髄再生治療法に用いる遊走因子として、bFGF は G-CSF と同様に有用であると述べている。

本論文では、bFGF は G-CSF と同様に歯髄再生治療法に使用する遊走因子として臨床応用が出来る可能性を示唆している。したがって、歯科保存学、

(論文審査の要旨)

No. 4

(2000字以内のこと)

愛知学院大学

口腔病理学および関連諸学科に寄与することが大きいと考え、博士（歯学）の学位を授与するに値するものと判定した。

平成 26年 1 月 29日