

# 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	金田 紗季
論文審査 委員氏名	主査 後藤 滋巳  副査 松原 達昭  河合 達志  宮澤 健		
論文題名	糖尿病性神経障害に対する歯髄幹細胞移植 および歯髄幹細胞分泌因子投与による 治療効果の比較検討		

インターネットの利用による公表用

糖尿病性神経障害は、糖尿病合併症の中で最も罹患率が高く、患者の QOL に悪影響を及ぼす。現在の治療法は、痛みに対する対症療法が主であり、再生医療は糖尿病性神経障害の新たな治療法として期待されている。

間葉系幹細胞の一種である歯髄幹細胞 (dental pulp stem cells : DPSCs) は、矯正治療による抜去歯や智歯から容易に採取可能であり、分化能や増殖能に優れ、凍結による機能低下を認めないため、魅力的な幹細胞の供給源である。これまでに、ストレプトゾトシン (STZ) 誘発糖尿病モデルを用いて、DPSCs の移植が糖尿病性神経障害に有効であることが報告されている。一方で、移植部位に残存する幹細胞の数は多くなく、さらに歯髄幹細胞分泌因子 (secreted factors from DPSCs : DPSC-SFs) の投与が糖尿病性神経障害改善効果を示すことから、DPSCs の移植の治療メカニズムは、移植後の幹細胞からの豊富なセクレトームが大きく影響していると考えられた。本研究では、糖尿病性神経障害に対し、DPSC 移植と DPSC-SF 投与のどちらがより効果的であるかを明らかにする目的で、DPSC 移植と DPSC-SF 投与による糖尿病性神経障害治療効果について直接比較検討した。

6 週齢雄性 Sprague-Dawley (SD) ラットの切歯から歯髄を採取し、DPSCs の分離・培養した。培養した DPSCs の培養上清を回収し、10 倍に濃縮したものを DPSC-SF として用いた。6 週齢雄性 SD ラットに STZ を投与して糖尿病を誘発し、8 週後に糖尿病ラット片側左側後肢骨格筋に DPSCs または DPSC-SFs を 10 箇所に分けて投与した。投与 4 週後に、坐骨神経運動神経伝

導速度 (motor nerve conduction velocity : MNCV)、感覚神経伝導速度 (sensory nerve conduction velocity : SNCV)、坐骨神経内血流量 (sciatic nerve blood flow:SNBF)、足底における表皮内神経線維密度 (intraepidermal nerve fiber density : IENFD) の測定、後肢骨格筋における免疫組織染色および遺伝子発現解析、歯髄幹細胞分泌因子の解析を行い、以下に結果を得ている。

### 1. 体重および血糖値

糖尿病ラットは、正常ラットと比較して有意な体重減少と高血糖を認めた。DPSC 移植、DPSC-SF 投与いずれも、糖尿病ラットの体重と血糖値に有意な変動を与えなかった。

### 2. MNCV、SNCV、SNBF および IENFD

正常ラットと比較して、糖尿病ラットでは、MNCV、SNCV の遅延、SNBF、IENFD の減少を認めた。DPSC 移植、DPSC-SF 投与ともに、糖尿病ラットで低下した MNCV、SNCV、SNBF および IENFD の改善を認めたが、DPSC 移植と DPSC-SF 投与による改善効果に有意な差は認められなかった。

### 3. 後肢骨格筋における筋束サイズおよび毛細血管筋束比

糖尿病ラットでは、筋束の平均サイズおよび毛細血管筋束比は、正常ラットと比較し減少していた。DPSC 移植と DPSC-SF 投与はいずれも、糖尿病ラットと比較して、筋束サイズおよび毛細血管筋束比を増加したが、DPSC 移植糖尿病ラットと DPSC-SF 投与糖尿病ラット間の筋束サイズおよび毛細

血管筋束比に有意差は認めなかった。

#### 4. 後肢骨格筋における遺伝子発現

糖尿病ラットと比較し、DPSC-SF 投与糖尿病ラットでは、NGF、bFGF、および NT-3 遺伝子発現の増加傾向、DPSC 移植糖尿病ラットでは NT-3 遺伝子発現の増加傾向を認めたが、どちらも有意差は認めなかった。

#### 5. 歯髄幹細胞分泌因子におけるタンパク質発現

DPSC-SFs には、血管新生因子、神経栄養因子および免疫制御因子などを中心に 17 種類以上のタンパク質が含まれていることを確認した。

これらの結果から本研究では、糖尿病性神経障害に対する DPSC 移植と DPSC-SF 投与の改善効果は同等であることを明らかにした。こうした事実は、両者の治療効果が、DPSC 移植初期の DPSCs または直接投与された DPSC-SFs から分泌された複数のセクレトームに起因することを示唆している。

本研究より、DPSC 移植と DPSC-SF 投与による治療効果の直接比較では、同等の効果をもって糖尿病性神経障害を改善することが明らかとなり、歯科矯正学、内科学および関連諸学科に寄与するところが大きい。よって本論文は博士（歯学）の学位授与に値するものと判定した。