

## 論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	甲	第	号
------	---	---	---	---

氏 名 坂口晃平

論 文 題 目


Periodontal tissue regeneration using the cytokine cocktail mimicking secretomes in the conditioned media from human mesenchymal stem cells

(ヒト間葉系幹細胞培養上清由来液性因子を模倣した成長因子混合剤を用いた歯周組織再生)

論文審査担当者

主 査 委員

名古屋大学教授

高橋 雅英 

名古屋大学教授

委員

平田 仁 

名古屋大学教授

委員

石黒 直樹 

名古屋大学教授

指導教授

日比 英晴 

## 論文審査の結果の要旨

別紙 1-2

ヒト間葉系幹細胞培養上清由来液性因子 (MSC-CM) は良好な骨・歯周組織再生能を有することが報告されているが、有効成分が同定されておらず、規格化の困難さなどから製剤化には至っていない。今回、MSC-CM に含まれていたインスリン様成長因子-1 (IGF-1)、血管内皮細胞成長因子-A (VEGF-A)、トランスフォーミング成長因子- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) を組み合わせて MSC-CM を模した成長因子混合剤 (CC) を作製した。イヌ根分岐部 II 級欠損モデルを用いて CC の歯周組織再生能を評価し、臨床で広く用いられるエムドゲイン® (EMD) との比較を行った。CC は幹細胞の遊走や血管新生を促し歯周組織の再生を促進した。CC による骨形成は EMD より優っておりセメント質形成は EMD と同程度であった。CC は有用な歯周組織再生剤となりうる可能性が示唆された。

本研究に対し、以下の点を議論した。

1. 今回 CC として使用した 3 種の成長因子を免疫沈降法で MSC-CM より除去した溶液をラット頭蓋骨骨欠損モデルに投与したところ、MSC-CM 投与群と比べて有意に骨形成能が減弱した。CC を同モデルに投与したところ、MSC-CM 投与群と同等の骨形成能を示したことから、今回使用した 3 種の成長因子が MSC-CM による骨形成の中心的役割を担っていると考えられる。
2. CC は EMD と同等のセメント質形成能を示し、EMD と比べて高い骨形成能を示した。*In vitro* では CC は EMD と比べて多くの幹細胞を遊走した。遊走された幹細胞は骨芽細胞へ分化、あるいは成長因子を分泌してパラクライン効果を発揮し骨形成を促すものと考えられる。すなわち CC と EMD の骨形成能の差は幹細胞の遊走に与える効果の差が一因であると考えられる。また、EMD 中の TGF- $\beta$ 、TGF- $\beta$  様活性物質の存在を示唆し、TGF- $\beta$  シグナル経路が EMD による骨形成の中心的役割を担っている可能性を示唆する報告もある。CC には TGF- $\beta$  に加えて複数の成長因子が混合されており、複数の骨形成シグナル経路を促進することで高い骨形成能を発揮した可能性が考えられる。
3. 過去の文献において、IGF-1 は幹細胞や歯根膜細胞の遊走や増殖、骨芽細胞やセメント芽細胞への分化を促進し、VEGF は血管新生を促進することが報告されている。TGF- $\beta$ 1 は幹細胞や歯根膜細胞の遊走や増殖、骨芽細胞やセメント芽細胞への分化に加えて血管内皮細胞の遊走増殖や上皮細胞のアポトーシス、細胞外基質の合成蓄積を促進する効果などが報告されている。先行研究では幹細胞や歯根膜細胞の遊走や血管新生に関してこれら 3 種の組み合わせによる増強効果も認められた。CC に含まれる 3 種の成長因子は、単独あるいは協調して歯周組織に作用することで、再生過程の多くの段階を効果的に活性化している可能性が考えられる。

以上の理由により、本研究は博士 (医学) の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。

別紙 2

試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※甲第	号	氏名	坂口晃平
試験担当者	主査	高橋雅英	平岡仁	黒田直樹
	指導教授	日比英晴		
<p>(試験の結果の要旨)</p> <p>主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. MSC-CM中の主たる有効成分について</li> <li>2. CCとエムドゲイン®との比較について</li> <li>3. 成長因子混合剤に含まれる各成長因子の歯周組織再生における効果について</li> </ol> <p>以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、顎顔面外科学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。</p>				