## 最終試験の結果の要旨

神奈川歯科大学 口腔治療学講座 歯周病学分野 吉田 賢二 に 対する最終試験は、主査 高橋 理 教授、副査 高垣 裕子 教授、 副査 槻木 恵一 教授により、 主論文ならびに関連事項につき口頭試問を もって行われた。

また、外国語の試験は、主査 高橋 理 教授によって、英語の文献読解力に ついて口頭試問により行われた。

その結果、合格と認めた。

主 査 教 授 高橋 理

副 査 教 授 高垣 裕子

副 査 教 授 槻木 恵一

## 論 文 審 査 要 旨

石灰化分化誘導培地を用いて作製したECM含有β-TCPが ラット骨髄間葉系幹細胞に与える影響

神奈川歯科大学 口腔治療学講座 歯周病学分野

研 宪 生 吉田 賢二

(指 導: 出口 眞二 教授)

主 査 教 授 高橋 理

副 査 教 授 高垣 裕子

副 査 教 授 槻木 恵一

## 論 文 審 査 要 旨

歯周治療時の新しい骨移植材の開発を目的として、石灰化分化誘導培地を用いてヒト歯槽骨骨膜由来細胞(HABPCs)により産生された細胞外基質(ECM)を含有した  $\beta$  -TCP(ECM 含有  $\beta$  -TCP)を作製し、気孔内部におけるラット由来の骨髄間葉系幹細胞 (BMSCs)の骨形成系細胞への分化を評価した。

HABPCs を $\beta$ -TCP 内にて 1 週間および 2 週間培養し ECM を産生させ、それぞれグループ 1 およびグループ 2 とした。 ECM 含有 $\beta$ -TCP はグループ 1 およびグループ 2 の $\beta$ -TCP を 5%CO<sub>2</sub>、37°Cにて 3 日間乾燥させることにより、内部の HABPCs を死滅させ作製した。それぞれの ECM 含有 $\beta$ -TCP に BMSCs を 2 週間培養した。なおコントロール群は通常の $\beta$ -TCP 内にて BMSCs を 2 週間培養したものとした。 $\beta$ -TCP 内の HABPCs および ECM 含有 $\beta$ -TCP 内の BMSCs を組織学的、免疫組織学的に分析し観察を行った。

HE 染色による組織学的検索においてグループ 1 に比較し、グループ 2 で有意に多い HABPCs が  $\beta$ -TCP 内に認められ、BMSCs はグループ 1 に比較し、グループ 2 で ECM 含有  $\beta$ -TCP 深部に有意に多く伸展していた。また免疫組織学的検索において HABPCs は  $\beta$ -TCP 内にて I 型コラーゲン、オステオポンチン、オステオカルシンといった骨基質タンパクを産生しており、骨芽細胞分化マーカーである Runx2 およびアルカリフォスファターゼのタンパク質発現が確認された。これらの発現はグループ 1 に比較し、グループ 2 で有意に多く認められた。BMSCs は ECM 含有  $\beta$ -TCP 内にて細胞増殖マーカーである Ki-67 およびオステオポンチン、オステオカルシンを産生しており、その発現はコントロール群と比較し、実験群で有意に多く観られた。特にオステオカルシン、オステオポンチンについてはコントロール群およびグループ 1 に比較し、グループ 2 で有意に多く認められた。

以上のことから HABPCs は  $\beta$ -TCP 内にて骨基質タンパクなどの ECM を産生し、その ECM を含有した  $\beta$ -TCP は BMSCs の増殖能を阻害することなく、骨形成系細胞への分化を促進することが示され、ECM 含有  $\beta$ -TCP は歯周治療時の新しい骨移植材となり得る可能性が示唆された。

本審査委員会は申請者が博士(歯学)の学位に十分値するものと認めた。