



Title	卵巣摘出マウスに対するヒト乳歯歯髄幹細胞の細胞培養液を用いた骨吸収抑制効果の検討 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	前田, 彩子
Citation	北海道大学. 博士(歯学) 甲第13478号
Issue Date	2019-03-25
Doc URL	<a href="http://hdl.handle.net/2115/74183">http://hdl.handle.net/2115/74183</a>
Rights(URL)	<a href="https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/</a>
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Ayako_Maeda_review.pdf (審査の要旨)



[Instructions for use](#)

# 学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（歯学） 氏名 前田 彩子

審査担当者 主査 教授 八若 保孝  
副査 教授 田村 正人  
副査 教授 網塚 憲生  
副査 准教授 吉村 善隆

学位論文題名  
卵巣摘出マウスに対するヒト乳歯歯髄幹細胞の細胞培養液を用いた  
骨吸収抑制効果の検討

審査は、審査担当者全員の出席の下、はじめに申請者より提出論文の概要の説明が行われ、審査担当者が提出論文の内容および関連した学問分野について口頭試問する形式で行われた。審査論文の概要は以下の通りである。

骨粗鬆症は僅かな外力で骨折を起こす疾患であり、骨粗鬆症の進行を防ぐために骨形成促進剤や骨吸収抑制剤が用いられている。骨吸収抑制効果の高いビスホスホネート製剤や抗 Receptor activator of nuclear factor kappa-B(RANKL)モノクローナル抗体製剤は、顎骨壊死等の有害事象の報告もあり、現在もより安全で効果的な治療薬の開発が続けられている。

乳歯歯髄組織に存在しているヒト脱落乳歯歯髄幹細胞(Stem cells from human exfoliated deciduous teeth : SHED)は、MSC の特性である多分化能と増殖能が高いことが知られている。本研究は、骨粗鬆症モデルである卵巣摘出(OVX)マウスを使用し、骨粗鬆症における SHED 分泌因子の有効性について検討を行った。

SHED はヒト脱落乳歯の歯髄より採取した。永久歯との比較においては、ヒト歯髄幹細胞(Dental pulp stem cell: DPSC)を使用した。SHED と DPSC を継代培養し、無血清培地 (serum-free culture medium : SF-MEM)に交換、上清(condition medium)をそれぞれ SHED-CM、DPSC-CM として使用した。動物実験は、11 週齢 C3H/HeJ 雌マウスに対して OVX を施行、直後から SHED-CM、DPSC-CM を腹腔内に投与した。投与開始 4 週後に安楽死させ、各種解析を行った。

大腿骨骨端部において、SHED-CM 群と DPSC-CM 群では骨梁減少は抑制されていた。血漿中の炎症性サイトカイン濃度については、SHED-CM 群では有意な上昇を認めなかった。末梢血リンパ球解析では、CD4 および CD8 陽性細胞数が、SF-MEM 群、SHED-CM 群、DPSC-CM 群で有意に増加していた。一方、末梢血における IL-17 および INF- $\gamma$  産生細胞数の測定を行った所、SHED-CM 群と DPSC-CM 群において有意に減少していた。以上より、SHED-CM 投与による骨吸収抑制効果は、SHED の免疫細胞を介した経路とは別

の機序が存在し、破骨細胞による骨吸収を抑制している可能性がある」と推測し、M1 および M2 マクロファージに注目した。腹腔内マクロファージの分布比率は、M1 マクロファージでは SHED-CM 群および DPSC-CM 群で有意に低い値を示した。一方で、M2 マクロファージでは、SHED-CM 群および DPSC-CM 群で有意に増加していた。SHED-CM 投与群で M2 マクロファージが増加していたため、M2 マクロファージの分化に必要な IL-4 の中和抗体を用いて発現を抑制した所、大腿骨骨端部において IL-4 中和抗体投与群、IL-4 中和抗体と SHED-CM 併用投与群で骨梁減少を認めた。末梢血における IL-17 および INF- $\gamma$  産生細胞数の測定では、IL-4 中和抗体投与群、IL-4 中和抗体 SHED-CM 併用投与群で有意に高い値を示した。IL-4 中和抗体 SHED-CM 併用投与群において、SHED-CM を投与しているにも関わらず骨梁が減少した原因は、M2 マクロファージの発現が IL-4 中和抗体によって阻害されたためと考えられる。

今回の結果から、OVX マウスに SHED-CM を投与することで、骨粗鬆症の症状が緩和されることが示された。SHED-CM 群では、炎症性サイトカインの血中濃度が低下していることから、SHED-CM による骨吸収抑制作用は、M2 マクロファージを介した、IL-17 および INF- $\gamma$  産生細胞への抑制効果が関与している可能性が示唆された。

引き続き、論文内容及び関連事項について以下の項目を中心に質疑応答がなされた。

1. IL-6 の検索について
2. SHED 移植と SHED-CM 投与の効果の差について
3. IL-4 を投与する方法について
4. SHED-CM の静脈内投与と腹腔内投与との違いについて
5. SHED の冷凍保存について
6. SHED と DPSC の活性の差について
7. SHED 獲得における乳歯の歯根吸収状態による影響について
8. SHED-CM の回収方法と期間について
9. M1 マクロファージに存在する TLR4 と破骨細胞の関係性について

以上の質問に対して申請者から適切な回答が得られた。審査担当者との質疑応答を通して、申請者が本研究ならびに関連分野を十分に理解し、幅広い知識を有していることが明らかになり、本研究のさらなる発展・進展が期待された。

以上のことから、審査担当者全員が、本研究が学位論文に十分に値し、申請者は博士(歯学)の学位を授与される資格があると認めた。