

ふりがな氏名	たかはし さいたつ 高橋 幸達
学位の種類	博士（歯学）
学位記番号	甲 第 732 号
学位授与の日付	平成 26 年 3 月 7 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項に該当
学位論文題目	Effect of Emdogain <sup>®</sup> -derived Oligopeptides on Human Microvascular Endothelial Cells <i>in vitro</i> (ヒト微小血管内皮細胞に対するエムドゲイン <sup>®</sup> 由来合成ペプチドの影響)
学位論文掲載誌	日本歯科保存学雑誌 第 56 巻 第 6 号 平成 25 年 12 月 31 日
論文調査委員	主査 梅田 誠 教授 副査 田中 昭男 教授 副査 山本 一世 教授

### 論文内容要旨

現在市場に流通しているエムドゲイン<sup>®</sup>（以下、EMD と略す）は幼若ブタの歯胚から抽出され、歯槽骨吸収の著しい歯周炎患者の歯周組織再生、とくに無細胞セメント質を誘導し歯周組織の再生を促す材料として現在広く臨床応用されている。しかし、EMD は生物由来材料のため、未知の病原体の問題点を払拭できず患者からの拒否感があるのも事実であり、生物に由来しない合成ペプチドの開発が望まれていることから、EMD の基礎研究から得た成果をもとに新規合成ペプチドを作製した。今回、硬組織の分化誘導過程における重要な歯周組織構成細胞であるヒト微小血管内皮細胞に対する EMD 由来新規合成ペプチドの影響について検討した。

ヒト微小血管内皮細胞として、市販されている皮膚由来のヒト微小血管内皮細胞を実験に使用し、ヒト微小血管内皮細胞に対する新規合成ペプチドの影響として、細胞の増殖、遊走、管腔の形成および細胞接着分子である ICAM-1 mRNA の発現について検討した。

実験群では合成ペプチドを 100 ng/mL の濃度で培地に溶解させ、ヒト微小血管内皮細胞に応用し、対照群では合成ペプチドを無添加とした。細胞増殖は 30 分、1、3、6、24、72 時間培養した後に、細胞遊走は Boyden chamber 法の改良法で 1、3、8 時間後にそれぞれを測定した。管腔の形成は三次元培養を施し、培養 6 日後に細胞骨格を Calcein にて蛍光染色を行ない蛍光顕微鏡にて観察した。細胞接着分子の発現は培養 3 日後の ICAM-1 mRNA の発現について比較検討を行なった。

細胞増殖は、すべての培養時間で実験群においてコントロール群に比べて有意に高かった。細胞遊走は、すべての培養時間で実験群においてネガティブコントロール群よりも有意に高く、ポジティブコントロール群とほぼ同様の結果となった。管腔の形成については実験群においてコントロール群に

比べ細胞突起の発生が顕著であった。ICAM-1 mRNA の発現について実験群はコントロール群に比べて有意に高かった。

これらの結果から、EMD 由来の合成ペプチドは歯周組織再生の過程でみられる硬組織の分化誘導過程の栄養供給に関与するヒト微小血管内皮細胞の増殖、遊走、管腔の形成および細胞接着分子の遺伝子発現を促進することが示唆された。

### 論文審査結果要旨

本論文は、硬組織の分化誘導過程における重要な歯周組織構成細胞であるヒト微小血管内皮細胞に対する EMD 由来新規合成ペプチドの影響について検討したものである。

ヒト微小血管内皮細胞として、市販されている皮膚由来のヒト微小血管内皮細胞を実験に使用し、ヒト微小血管内皮細胞に対する新規合成ペプチドの影響として、細胞の増殖、遊走、管腔の形成および細胞接着分子である ICAM-1 mRNA の発現について検討した。

実験群では合成ペプチドを 100 ng/mL の濃度で培地に溶解させ、ヒト微小血管内皮細胞に応用し、対照群では合成ペプチドを無添加とした。細胞増殖は 30 分、1、3、6、24、72 時間培養した後に、細胞遊走は Boyden chamber 法の改良法で 1、3、8 時間後にそれぞれを測定した。管腔の形成は三次元培養を施し、培養 6 日後に細胞骨格を Calcein にて蛍光染色を行ない蛍光顕微鏡にて観察した。細胞接着分子の発現は培養 3 日後の ICAM-1 mRNA の発現について比較検討を行なった。

結果として、細胞増殖は、すべての培養時間で実験群においてコントロール群に比べて有意に高かった。細胞遊走は、すべての培養時間で実験群においてネガティブコントロール群よりも有意に高く、ポジティブコントロール群とほぼ同様の結果となった。管腔の形成については実験群においてコントロール群に比べ細胞突起の発生が顕著であった。ICAM-1 mRNA の発現について実験群はコントロール群に比べて有意に高かった。

以上の結果から、EMD 由来の合成ペプチドは歯周組織再生の過程でみられる硬組織の分化誘導過程の栄養供給に関与するヒト微小血管内皮細胞の増殖、遊走、管腔の形成および細胞接着分子の遺伝子発現を促進することが示唆された点において、本論文は博士（歯学）の学位を授与するに値すると判定した。