

ふりがな氏名	かたやま のぶひと 片山 暢仁
学位の種類	博士（歯学）
学位記番号	甲 第 744 号
学位授与の日付	平成 27 年 3 月 6 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	The Effects of Synthetic Oligopeptide Derived from Enamel Matrix Derivative on Cell Proliferation and Osteoblastic Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells (ヒト間葉系幹細胞に対するエナメルマトリックス由来合成ペプチドの影響)
学位論文掲載誌	International Journal of Molecular Sciences 第 15 巻 第 8 号 平成 26 年 8 月
論文調査委員	主査 梅田 誠 教授 副査 田中 昭男 教授 副査 今井 弘一 教授

論文内容要旨

歯周治療における再生療法の一つとして、エムドゲイン®が臨床の場において広く使われている。しかし動物組織由来であるため、エムドゲイン®は未知のタンパク質が含まれている可能性がある。そこで我々は 2 バイアルタイプのエムドゲイン®を用いた基礎実験の結果を基に合成ペプチドを開発した。間葉系幹細胞は、高い骨芽細胞分化能と硬組織形成能を有するため、歯周組織再生にも重要な役割をする。本研究では、合成ペプチドがヒト間葉系幹細胞 (HMSCs) に及ぼす影響について明らかにするために、細胞増殖、骨芽細胞分化、石灰化物形成を検討し、また細胞が骨芽細胞分化、増殖する際に重要な因子である extracellular signal-related kinases(ERK)の発現について検索した。

HMSCs は理化学研究所から提供をうけた。この HMSCs の増殖能については合成ペプチド (1、10、100、1000 ng / mL) をそれぞれ添加した通常培地で検討した。HMSCs の骨芽細胞分化は骨芽細胞分化培地で培養し、アルカリホスファターゼ (ALP) 活性、アリザリンレッド染色による石灰化物形成能、Procollagen Type I C-peptide (PIP) 産生量、オステオカルシン産生量、細胞外マトリックスへのカルシウム析出量を検討した。対照群として合成ペプチド無添加の培地を用いた。合成ペプチドによる ERK への作用は、ERK 阻害剤である PD98059 を作用させ評価した。

HMSCs は合成ペプチド 10 ng / mL の濃度で最も細胞増殖能を促進した。ALP 活性、ALP 染色、PIP 産生量、およびオステオカルシン産生はいずれも、合成ペプチド 10 ng / mL の濃度において顕著に増加した。また合成ペプチド 10 ng / mL の濃度に PD98059 を作用させた際、骨芽細胞分化能、石灰化形

成能はいずれの結果においても有意に阻害された。

これらの結果、合成ペプチドは 10 ng / mL の濃度で HMSCs の細胞増殖、骨芽細胞分化、石灰化形成を促進した。合成ペプチドによって誘導された、細胞増殖、骨芽細胞分化が PD98059 の作用により阻害されたことから、合成ペプチドは ERK を介して、HMSCs の細胞増殖、骨芽細胞分化能を促進することが示唆された。

論文審査結果要旨

ヒト由来間葉系幹細胞 (HMSCs) は、歯周組織再生に関係する重要な細胞として注目されている。大阪歯科大学口腔病理学講座で作製されたエムドゲイン®由来合成ペプチドを本研究に使用した。本研究者は合成ペプチドが HMSCs に及ぼす影響について明らかにしている。

HMSCs は理化学研究所から提供をうけた。この HMSCs の細胞増殖能については合成ペプチド (1、10、100、1000 ng / mL) をそれぞれ添加した通常培地で検討した。HMSCs の骨芽細胞分化は骨芽細胞分化培地で培養し、アルカリホスファターゼ (ALP) 活性、アリザリンレッド染色による石灰化物形成能、Procollagen Type I C-peptide (PIP) 産生量、オステオカルシン産生量、細胞外マトリックスへのカルシウム析出量を検討した。対照群として合成ペプチド無添加の培地を用いた。合成ペプチドによる ERK への影響は、ERK 阻害剤である PD98059 を作用させ評価した。

その結果、HMSCs は合成ペプチド 10 ng / mL の濃度で最も細胞増殖能を促進した。ALP 活性、ALP 染色、PIP 産生量、およびオステオカルシン産生はいずれも、合成ペプチド 10 ng / mL の濃度において顕著に増加した。また合成ペプチド 10 ng / mL の濃度に PD98059 を作用させた際、骨芽細胞分化能、石灰化形成能はいずれの結果においても有意に阻害された。

以上の結果は合成ペプチドと HMSCs の関連を明らかにし、その作用機序の一端を解明し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。