

ふりがな氏名	かとう ひろひと 嘉藤 弘仁
学位の種類	博士（歯学）
学位記番号	甲 第 739 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	<i>Porphyromonas gingivalis</i> LPS inhibits osteoblastic differentiation and promotes pro-inflammatory cytokine production in human periodontal ligament stem cells (<i>Porphyromonas gingivalis</i> LPS によるヒト歯根膜幹細胞の骨芽細胞分化能の阻害と炎症性サイトカインの産生)
学位論文掲載誌	Archives of Oral Biology 第 59 巻 第 2 号 平成 26 年 2 月
論文調査委員	主査 田中 昭男 教授 副査 林 宏行 教授 副査 梅田 誠 教授

論文内容要旨

歯周組織再生において歯根膜幹細胞（PDLSCs）は重要な役割を担う細胞であり、細胞治療による歯周組織再生療法の重要な細胞源として注目されている。また、*Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) は歯周病との深い関連があるとされている。しかし、PDLSCs と歯周病との関連についての検討は未だに報告されていない。そこで、本研究では歯周病が歯周組織再生に及ぼす影響について明らかにするために、*P. gingivalis* LPS による PDLSCs の細胞増殖、骨芽細胞分化、石灰化物形成、炎症性サイトカイン産生への影響について検討した。

PDLSCs はヒト抜去歯（第三大臼歯）の歯根膜より分離し、間葉系幹細胞マーカー (STRO-1, SSEA-4) の発現を免疫組織化学的染色にて検討した。また PDLSCs を *P. gingivalis* LPS (0, 1, 10 µg/ml) 添加した培地で 1 時間～21 日間培養し、細胞増殖、アルカリホスファターゼ (ALP) 活性、Type1-collagen- α -1 (COL1A1) 産生量、オステオカルシン (OCN) 産生量、細胞外マトリックスへのカルシウム析出量、およびアリザリン・レッド染色による石灰化物形成を検討した。また、炎症性サイトカインについては歯周組織破壊と深い関連がある IL-1 β , IL-6, および IL-8 の産生量を検討した。

PDLSCs は間葉系幹細胞マーカー (STRO-1, SSEA-4) 陽性であった。*P. gingivalis* LPS 添加群は濃度依存的に細胞増殖ならびに、IL-1 β , IL-6, および IL-8 の産生量を有意に促進した。また ALP 活性、COL1A1, OCN 産生量、カルシウム析出量、および石灰化物形成を有意に抑制した。これらの結果より、*P. gingivalis* LPS は PDLSCs の骨芽細胞分化能および石灰化物形成を抑制する作用があることが示唆

された。さらに、*P. gingivalis* LPS の刺激に反応し、PDLSCs の細胞増殖、炎症性サイトカインの産生が促進されることが示唆された。これらの結果は歯周組織再生と歯周病との関連を明らかにする一助となると考えられる。

論文審査結果要旨

歯周組織再生に歯根膜幹細胞 (PDLSCs) は、重要な役割を担うため細胞治療による歯周組織再生療法のキーとなる細胞として注目され、*Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) は歯周病原細菌の一つであるといわれている。しかし、PDLSCs と歯周病との関連についての検討は未だに報告されていない。そこで、本研究者は、歯周組織再生に及ぼす歯周病の影響について明らかにしている。

ヒト抜去歯 (第三大臼歯) の歯根膜より分離した PDLSCs が間葉系幹細胞であることの確認はマーカー (STRO-1、SSEA-4) の発現を免疫組織化学的染色で行っている。PDLSCs を *P. gingivalis* LPS を添加した培地で一定期間培養し、細胞増殖、アルカリホスファターゼ (ALP) 活性、Type1-collagen- α -1 (COL1A1) 産生量、オステオカルシン (OCN) 産生量、細胞外マトリックスへのカルシウム析出量、およびアリザリン・レッド染色による石灰化物形成を検討している。炎症性サイトカインについては歯周組織破壊と深い関連がある IL-1 β 、IL-6、および IL-8 の産生量を検討した。その結果、*P. gingivalis* LPS 添加群は濃度依存的に細胞増殖ならびに、IL-1 β 、IL-6、および IL-8 の産生量を有意に促進した。ALP 活性、COL1A1、OCN 産生量、カルシウム析出量、および石灰化物形成は有意に抑制されたことから *P. gingivalis* LPS は PDLSCs の骨芽細胞分化能および石灰化物形成を抑制する作用があり、PDLSCs の細胞増殖、炎症性サイトカインの産生を促進することを示した。

以上の結果は歯周組織再生と歯周病との関連を明らかにする一助となることを証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。