

論文審査の結果の要旨

氏名：秋 田 大 輔

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：Periodontal tissue regeneration by transplantation of adipose-derived stromal cells in combination with PLGA-based solid scaffolds

（脂肪組織由来間質細胞と DL-乳酸-グリコール酸共重合体による歯周組織の再生）

審査委員：（主 査） 教授 米 原 啓 之 ㊞

（副 査） 教授 石 上 友 彦 ㊞ 教授 磯 川 桂 太 郎 ㊞

教授 清 水 典 佳 ㊞

歯周炎、外傷など種々の原因で破壊された歯槽骨ならびに歯根膜の再生には、人工骨移植や組織再生誘導法が行われているが、その適応や効果は現時点ではまだ限定的である。近年、再生医療の分野において生体材料と組み合わせた間葉系幹細胞移植治療が歯周組織再生の効果向上に有望視されている。とりわけ、脂肪組織由来の間質細胞群（以下 ASCs）は、骨髄由来間葉系幹細胞と同様の多分化能を示し、脂肪組織が骨髄より採取をしやすい部位であることから、再生医療用の移植細胞源としての注目されている。また、生体親和性と安全性に優れた乳酸-グリコール酸共重合体を基材とする担体（以下 PLGA scaffold）も生体材料として注目されていることから、本研究の著者はラット ASCs と PLGA scaffold の複合体が示す歯周組織再生能についての検討を行っている。

In vitro では、9 週齢の近交系 F344 雄性ラットと 8 週齢の非近交系 SD 雄性ラット（計 4 匹ずつ）の鼠径部皮下脂肪組織を採取し、コラゲナーゼ処理後、低速度遠心分離を行って得られた ASCs を脂肪細胞、軟骨細胞あるいは骨芽細胞への分化誘導培地で培養し、Oil-Red O, Alcian Blue および Alizarin Red 染色性、Alkaline phosphatase 活性、カルシウム沈着量などを指標に分化能の有無を検討している。

In vivo では、F344 ラット（計 8 匹）および SD ラット（計 6 匹）の左側下顎臼歯部頰側に麻酔下で歯周組織欠損（縦 2mm×横 3mm×深さ 1mm）を外科的に作製し、細胞を播種した PLGA scaffold あるいは PLGA scaffold のみを移植している。前者・実験群（ASCs/PLGA 群）と後者・対照群（PLGA 群）で、0, 1, 2 および 5 週における *in vivo* micro-CT を用いて骨の再生状況を観察し、得られた CT データをもとに解析ソフトを用いて、欠損部の骨再生量を定量化している。また、5 週経過後の下顎骨を摘出し、第 1 臼歯遠心根の組織学的解析から欠損部の歯周組織再生能を評価している。

さらに、蛍光色素でラベリングした ASCs を PLGA scaffold に播種して歯周組織欠損部に移植し、2 週経過後の細胞局在部位を蛍光顕微鏡観察から評価している。

その結果、以下の結論を得ている。

1. ラット鼠径部皮下脂肪組織から採取した ASCs は、分化誘導培地を用いた培養により脂肪細胞、軟骨細胞、骨芽細胞への分化が誘導される。
2. 移植を行った両群には、歯根吸収や骨性癒着は観察されず、欠損部の硬組織形成が CT による経日的観察から認められている。定量解析の結果、F344 および SD いずれの場合でも、5 週経過後の硬組織再生量は ASCs/PLGA 群は PLGA 群よりも有意に高い傾向を示している。
3. 組織学的解析から、両群において移植部の新生骨組織とセメント質様硬組織の形成のほか、再生した硬組織へのコラーゲン線維の埋入が認められている。ASCs/PLGA 群には、PLGA 群よりも太い線維束が観察されているだけでなく、組織形態計測からセメント質様硬組織と歯根膜の幅径は、ASCs/PLGA 群の方が PLGA 群よりも有意に大きい値を示している。
4. 蛍光標識された細胞は歯根膜組織中に散在していることが認められている。

以上のように本研究結果は、多分化能を示す細胞を含んだ ASCs と PLGA の複合体移植が、歯槽骨、セメント質様硬組織および線維性の歯根膜組織の再生において促進的に作用することを示唆しており、破壊された歯周組織再建に有効な新たな再生療法として有望だと考えられる。

よって本論文は、博士（歯学）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上

平成 26 年 3 月 5 日