

論文審査の結果の要旨

氏名：倉持 光成

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文課題：Role of Sphingosine-1-Phosphate in Human Dental Pulp Cells to Form Hard Tissue
(ヒト歯髄細胞の硬組織形成におけるスフィンゴシン-1-リン酸の役割)

審査委員：(主査) 教授 小方 頼昌

(副査) 教授 福本 雅彦

教授 吉垣 純子

歯髄は様々な細胞により構成され、歯の機能や保存に大きく関与する。歯髄を失った歯は歯根破折などの問題を起こしやすく、最終的に抜歯という経過をとることが临床上多く見られる。それらを避けるためには歯髄の保存が重要となってくるが、歯髄は周囲を硬組織で囲まれるなどの特殊な環境から、炎症が進行すると抜髄処置の適応となり、失われてしまう場合が多い。歯髄は外界からの病的な刺激が加わった場合、炎症状態の惹起と共にその防御反応として生理的に修復象牙質が形成され、歯髄そのものが自ら保護されることによって歯髄が保存されることが特徴であり重要な点となってくる。近年、歯髄の自然治癒に対する潜在能力に着目し、象牙質形成を含めた機能再生を目的とした象牙質・歯髄再生療法や、水酸化カルシウム製剤または Mineral trioxide aggregate (MTA)セメントを用いた直接覆髄法による歯髄保存療法などが臨床応用されている。それらには歯髄細胞の分化により硬組織が形成され治癒が導かれることが重要である。しかしながら水酸化カルシウム製剤による直接覆髄法への応用は硬組織の形成量が比較的多いとされている一方で、多孔質で不均一な硬組織であることや強アルカリ性の性質から歯髄組織に壊死層を形成することなどの問題点も指摘されている。

一方、現在生体における脂質メディエーターの役割が注目されている。特にスフィンゴシン-1-リン酸(S1P)をはじめとするスフィンゴ脂質類はその働きが様々な細胞応答を引き起こすとされており研究が進んでいる。

S1Pはスフィンゴ脂質由来の複合脂質として血漿中に数 μM の濃度で存在し、細胞膜上に存在する5つの受容体(S1PR1~5)に結合することで様々な生理活性を示すとされている。5つの受容体はいずれもGタンパク質共役型受容体であり、S1Pはそれらの受容体を活性化させることにより多彩なシグナル経路に共役すると考えられている。S1Pによるシグナルの標的としては主に血管系・免疫系と言われており、脂質メディエーターとして細胞増殖や分化・接着など様々な細胞機能の調節など多様な役割に関与していると報告され注目されている。S1Pとその受容体への作用は創薬にも活かされており、S1P受容体を標的とした薬物で代表的なものとして新規免疫抑制薬のフィンゴリモド(FTY720)がある。FTY720は最近日本において多発性硬化症の治療薬として認可され臨床応用されている薬物である。またS1Pが根尖性歯周炎による根尖歯周組織破壊に対して、骨分化シグナルの活性化と分化制御因子による骨再生能力を向上させると報告され注目されている。このようにS1Pと受容体の関係は生体における生理機能だけでなく疾病の治療などにも活かされている。

現在、象牙質・歯髄再生療法や歯髄保存療法が臨床応用されその有用性が注目されており、より確実に良質な硬組織の形成を促すことは確実な歯髄の保存につながると考えられる。しかし硬組織形成の機序やメカニズムについてその詳細は未だ不明な部分も多いため、さらなる解明が必要である。また血管組織の豊富な歯髄組織において、血液中に豊富に存在しているとされるS1Pは、シグナル伝達や生理活性などに深く関与していると思われるが十分な研究報告はなされていない。そこで本研究では歯髄細胞におけるS1Pの働きを解明することを目的として、S1Pのヒト歯髄培養細胞(hDPCs)における硬組織形成能に注目し、ALP活性の測定、アリザリンレッド染色、硬組織関連マーカーの検索、hDPCsにおけるS1PRの検索、加えて $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 動態について検討を行った。

hDPCsにS1Pを作用させると、アリザリンレッドの染色性の増大とALP活性の亢進が認められた。さらに、S1Pを作用させたhDPCsではBMP-2 mRNA発現の亢進、BMP-2、DSPPタンパク質発現の亢進を認めた。加えて、S1PはS1PR1-3を介して小胞体からのCa²⁺の放出により[Ca²⁺]_iの上昇を引き起こすことが明らかになった。

以上の結果から、S1PはhDPCsの[Ca²⁺]_iを増加させ、硬組織形成を促進することが示された。S1Pは生体に存在することから、覆髄剤に応用できれば生体に対して為害性が少なくかつ覆髄処置後に質の高い硬組織の形成を期待できる可能性を有しているため、新規覆髄剤として有用であると考えられる。本研究は、培養細胞を用いた基礎的研究であるため、今後は実験動物を用いた*in vivo*研究を重ね、S1Pの臨床応用の可能性についてさらなる検討を行う必要がある。これらの結果は、S1PがhDPCsの硬組織形成能に与える影響について新たな知見を得たものであり、覆髄処置を含めた歯髄保存療法に応用される新規覆髄剤の開発と発展に大きく寄与するものである。

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

令和 年 月 日