

A Study on the Effect of Human Dental Pulp Stem Cell Conditioned Medium on Human Oral Squamous Cell Carcinoma Cell Lines

羽生 紳太郎

論文内容の要旨

本研究は、歯髄幹細胞由来培養上清(以下 DPSC-CM)の臨床応用に先立ち、担癌状態患者への投与を想定した場合の DPSC-CM のがん細胞に対する潜在的な影響を調べるため、ヒト口腔扁平上皮癌(以下 OSCC)細胞株の細胞増殖率、抗癌剤感受性、癌増殖因子に及ぼす影響について検討したものである。本実験では、OSCC 株は HSC-2, HSC-3, HSC-4, OSC-19 および SAS を用いた。また、細胞増殖率および抗癌剤感受性の評価は、コラーゲンゲルによる 3 次元培養を利用した抗癌剤感受性試験である CD-DST 法を用いて、OSCC 細胞株における細胞増殖率、抗癌剤感受性を DPSC-CM 接触群と DMEM 接触群(対照群)で比較検討した。併せてヌードマウスを用いて *in vivo* の検証も行った。さらに、DPSC-CM 接触時の OSCC 株における癌増殖因子(VEGF、EGF、IL-8 および FGF-2)の経時的な産生量を ELISA 法により測定し、対照群と比較検討した。ELISA 法による検証にて、VEGF が DPSC-CM 接触群で有意に高値を示したため、Realtime-RT-PCR 法を用いて、DPSC-CM 接触群と対照群における OSCC 株の経時的な VEGF 発現レベルの比較を行った。得られた結果は以下の通りである。

1. CD-DST 法を応用した細胞増殖率と抗癌剤感受性は、DPSC-CM 接触群と対照群の間で有意差を認めなかった。
2. ヌードマウスを用いた *in vivo* における移植腫瘍の増殖率は、DPSC-CM 投与群と対照群の間で、有意差を認めなかった。
3. ELISA 法では、VEGF 産生量が DPSC-CM 接触群で有意に高値を示したが、EGF、IL-8、FGF-2 の産生量は DPSC-CM 接触群と対照群の間で、有意差を認めなかった。
4. Realtime-RT-PCR 法では、DPSC-CM 接触群において VEGF 発現レベルが有意に高く、経時的に増加傾向を認めた。

以上より、DPSC-CM の OSCC 株への接触は、腫瘍の増殖や抗癌剤感受性に影響を与えなかった。一方、DPSC-CM の接触により VEGF の過剰産生が認められた。

論文審査の結果の要旨

本論文は、DPSC-CM の臨床応用に伴い、OSCC 株に対する影響について CD-DST 法、ヌードマウスを用いた *in vivo* 実験、ELISA 法、Realtime-RT-PCR 法を用いて検討したものである。その結果、DPSC-CM は OSCC 株の細胞増殖率や抗癌剤感受性には影響を及ぼさない可能性が示唆された。一方、OSCC 株からの VEGF 産生量と発現レベルは DPSC-CM 接触群で有意な増加を認め、DPSC-CM の長時間接触により OSCC 株の生物学的性質に影響を及ぼす可能性が示唆された。よって本論文は、DPSC-CM の臨床応用に際して、極めて有益で新しい知見であると考えられる。以上より、歯学に寄与するところが大きく、博士(歯学)の学位に値するものと審査する。

主査 大越 章吾

副査 佐藤 聡

副査 岡田 康男

最終試験の結果の要旨

羽生 紳太郎に対する最終試験は、主査 大越 章吾教授、副査 佐藤 聡教授、副査 岡田 康男教授によって、主論文に関する事項を中心として口頭試問が行われ、優秀な成績をもって合格した。