

# Effects of human dental pulp stem cell-derived conditioned medium on atrophied submandibular gland after the release from ligation of main excretory duct in mice

竹内 寿志

## 論文内容の要旨

唾液腺は唾石等による閉塞を想定した導管の結紮により、機能低下を認める。本研究では、歯の再生医療資源活用への試みとして歯髓由来幹細胞培養上清 (DPSC-CM) を顎下腺主導管結紮解除後のマウスに投与し、効果を検討した。マウス顎下腺主導管を3週間結紮し、その後解除した。解除後、Dulbecco's modified eagle's medium (DMEM) または DPSC-CM を隔週毎に頸静脈より投与した。実験群は5群に分け、3週間結紮群、非結紮群、Control 群、DMEM 隔週投与群 (DMEM 群)、DPSC-CM 隔週投与群 (CM 群) とした。Control 群、DMEM 群、CM 群は解除後2, 4, 8週間後に犠牲死させ、顎下腺を採取した。一般組織学的解析および免疫組織化学的解析、Real-time RT-PCR 法による遺伝子発現定量解析にて検討を行った。結果を以下に示す。

1. 3週間の顎下腺導管結紮により、顎下腺の萎縮所見を認めた。結紮解除後は各実験群において、経時的に萎縮の改善傾向および組織学的に腺房細胞の回復を認めた。
2. 幹細胞マーカーである c-Kit は、3週間の結紮により陽性細胞および mRNA 発現量の増加を認めた。解除後は減少を認めたが、実験群間に有意差は認めなかった。
3. CM 群では、結紮解除後4週において、前駆細胞マーカーである CK5、解除後8週においては、腺房細胞マーカーである AQP5 の陽性細胞および mRNA 発現量が、Control 群、DMEM 群と比較して有意に多く認められた。
4.  $\alpha$ -amylase は、3週間の結紮により陽性細胞および mRNA 発現量の著明な低下を認めた。解除後はわずかに増加傾向を認めたが、全ての実験群において有意差は認めなかった。

上記の結果より、顎下腺主導管結紮解除後のマウスに DPSC-CM を投与し、解除後4週においては CK5、解除後8週では AQP5 の発現を有意に多く認めた。これは、DPSC-CM に含まれる成長因子の効果が考えられた。以上より、DPSC-CM の投与により、萎縮唾液腺の腺房細胞再生を促進する可能性が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

本論文は、顎下腺主導管結紮解除後のマウスに歯髓由来幹細胞培養上清 DPSC-CM を投与し、組織学的および遺伝子発現定量解析にて唾液腺に対する作用効果を検討したものである。その結果、DPSC-CM の投与が、萎縮唾液腺の腺房細胞再生を促進する可能性を示した。本研究は萎縮唾液腺に対して、新たな治療法となり得る知見である。以上は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 石山巳喜夫

副査 大越 章吾

副査 森田 貴雄

## 最終試験の結果の要旨

竹内 寿志に対する最終試験は、主査 石山巳喜夫教授、副査 大越 章吾教授、副査 森田 貴雄教授によって、主論文に関する事項を中心として口頭試験が行われ、優秀な成績をもって合格した。