

## 論文審査結果報告書

論文提出者氏名 廉 晃 勲

学位論文題目：Platelet-rich plasma enhances the differentiation of dental pulp progenitor cells into odontoblasts

審査委員（主査）教授 自見 英治郎 印

（副査）教授 竹内 弘 印

（副査）教授 松尾 拓 印

### 論文審査結果の要旨

【目的】血液中に存在する様々な成長因子が創傷治癒に重要な役割を果たすことが広く知られているが、特に血小板の $\alpha$ 顆粒中には組織再生に効果的な成長因子が多く含まれていることから多血小板血漿 (Platelet-rich plasma ; PRP)は、インプラント埋入時や歯周組織再生時の骨増生などの臨床に応用されている。PRは血小板が高濃度に含まれ自己血から容易に得られる成長因子の供給源として注目されているが、象牙芽細胞分化に対する PRP の効果はほとんど検討されていない。そこで本研究では、ラット切歯の歯乳頭細胞由来の歯髓前駆細胞 (KN-3 細胞) を用いて象牙芽細胞分化に対する PRP の効果を検討した。

【方法と結果】健常人の末梢血より調製した PRP を種々の濃度で歯髓前駆細胞 KN-3 細胞に添加し継時的に全 RNA およびタンパク質を調製し、象牙質シアロリタンパク質 (Dentin sialophosphoprotein ; DSPP) または象牙質基質タンパク-1 (Dentin matrix protein-1 ; DMP-1) の発現を real-time RT-PCR と Western blot 法で検討した。KN-3 細胞をアスコルビン酸 (AA) および  $\beta$  グリセロリン酸 ( $\beta$ GP) 含有の $\alpha$ -MEM 培地に 5%の PRP 存在下または非存在下で培養し、0、3および7日目にアルカリホスファターゼ (Alkaline phosphatase ; ALP) 染色と ALP 活性を測定したところ、PRP は ALP 陽性細胞数と ALP 活性を促進した。さらに、AA,  $\beta$ GP 含有 $\alpha$ -MEM 培地にトランスウェルを用いて 1%PRP 存在または非存在下で 28 日間培養すると PRP 存在下ではアリザリンレッド陽性の石灰化組織が著明に形成された。

【結論】以上の結果から、PRP は KN-3 細胞の象牙芽細胞分化を増強することが明らかになった。この作用は PRP 中に含まれる多くの成長因子が単独または相互作用によって、KN-3 細胞の象牙芽細胞へ分化を誘導したと考えられる。今後、ラット断髓モデルを用いて *in vivo* で PRP の歯髓再生効果を検討することで、PRP が象牙質・歯髓複合体の再生に応用できる可能性を明らかにすることができると思われる。本研究内容について申請者の廉 晃勲氏に対し、主査と2名の副査で実験に用いた細胞のキャラクターや PRP の調製方法について質問したが、概ね適切な回答を得た。総じて、審査委員会では本論文を学位論文として価値あるものと判断した。