

指 導 教 授 氏 名	指 導 役 割
窪 木 拓 男 印	研究総括, 論文構成 等
印	
印	

学 位 論 文 要 旨

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科

専攻分野インプラント再生補綴学	身分 大学院生	氏名 國友 由理
<p>論 文 題 名 Acidic Pre-Conditioning Enhances the Stem Cell Phenotype of Human Bone Marrow Stem/Progenitor Cells (組織の炎症が引き起こす酸性条件がヒト骨髄由来間葉系幹細胞に及ぼす影響)</p>		
<p>論文内容の要旨 (2000字程度)</p> <p>【緒言】 創傷部位の治癒においては、炎症や免疫反応が組織再生に最適な条件に調整される必要があり、創傷部位に誘導される組織幹細胞が炎症や免疫反応制御といった重要な働きを担っていることが知られている。そこで我々はこれまでに、マウス大腿骨骨折や抜歯窩治癒過程において、未分化間葉系幹細胞のマーカーの一つである CD146 陽性, SSEA4 陽性の組織幹細胞が多数集積し、時間と共にその数が減少すること、また、炎症部位に誘導された組織幹細胞は通常の組織幹細胞と比較し、多分化能や増殖能が高い細胞群であることを報告してきた。さらに、創傷治癒の炎症期に発現が誘導される炎症性サイトカインの一つである TNF-α による短期刺激にて間葉系幹細胞の未分化マーカーの発現が上昇し、多分化能が向上することを報告してきた。しかし、創局所に集積した組織幹細胞に対して、炎症環境において変化した pH がどのような影響を及ぼすかについては、いまだ不明な点が多い。そこで、本研究では抜歯窩および大腿骨の創傷治癒モデルを用いて pH の経時的変動を測定し、治癒過程における最低値 pH がヒト骨髄由来間葉系幹細胞 (以下, hBMSCs) に与える影響を検討したので報告する。</p> <p>【方法と結果】 創傷治癒部位における pH の変化を明らかにするため、8 週齢 C57BL/6 マウスの実験的大腿骨欠損部と抜歯窩の pH を、高解像度光ファイバー pH マイクロ非破壊センサーを用いて計測した。本測定器は直径 140 μm の非常に小さな光学センサーを用いるため、組織を破壊することなく局所の pH を測定することが可能である。マウス抜歯窩 (N=4) の創傷治癒部 pH は、術直後に 7.15 であったが、1 日後には 6.90, 2 日後には 6.87 まで低下した。その後 pH は徐々に上昇し、7 日後には 7.05 まで回復した。実験的大腿骨欠損部の pH は、術直後に 7.10 であったが、6 時間後に 6.90 まで低下し、1 日後には 6.85 まで低下した。術後 3 日後から pH は上昇し、7 日後には 7.12 まで回復した。 <i>in vivo</i> で得られた結果をもとに pH を調整した培地で hBMSCs を培養し、それらの細胞増殖能を MTS assay で、細胞遊走能を Boyden Chamber 法にて評価した。また、幹細胞性を幹細胞マーカーである Stage-specific embryonic antigen-4 (SSEA-4), Octamer-binding transcription factor 4 (OCT-4), NANOG を指標に、フローサイトメトリーおよび定量性 RT-PCR 法にてそれぞれ評価した。pH 6.8 の酸性条件にて hBMSCs を培養した結果、hBMSCs の幹細胞マーカーである SSEA-4 のタンパク質発現レベル (1.31 倍), OCT-4 (1.66 倍, $p < 0.05$), NANOG (1.47 倍, $p < 0.05$) の mRNA 発現レベルの上昇を認めた。また、hBMSCs の細胞増殖能は有意に上昇したが (1.18 倍, $p < 0.01$), 細胞遊走能は有意に低下した (0.84 倍, $p < 0.05$)。</p>		

【結論と考察】

高解像度光ファイバーpH マイクロ非破壊センサーを用いて解析した結果、歯槽骨や大腿骨の創傷部位は、創傷直後に pH 6.8 程度の酸性状態に誘導されることが明らかになった。この酸性条件下では、hBMSCs が呈する幹細胞性が向上すると共に、細胞増殖能が向上するが、細胞遊走能は低下することが明らかとなった。つまり、創傷直後の創傷部位の pH の低下は、創傷治癒において重要な働きを担っている hBMSCs の幹細胞性を向上させるだけでなく、細胞を創傷治癒部位において増殖させるとともに、その部位に留めるために細胞遊走能を低下させる役割がある可能性が示唆された。