

アスピリンによる歯髄硬組織形成誘導の促進：*FOXC1*，*RUNX2*，*MCAM*発現の解析

宮坂 直樹

論文内容の要旨

歯髄の間葉系細胞には、多分化能を有し象牙質/歯髄複合体の再生に関わる細胞が含まれており、アスピリンは歯髄細胞の硬組織形成を促進することが報告されている。*FOXC1*は石灰化マーカーである *RUNX2* の制御因子として、*MCAM*は幹細胞マーカーとして知られているが、アスピリンによる石灰化誘導との関連は解明されていない。本研究では、*FOXC1*および *RUNX2* の発現をノックダウンした歯髄細胞培養系を用いて、アスピリンの石灰化誘導機序を解明することを目的とした。

抜去歯から分離した歯髄細胞にアスピリン（2.5，50，100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ）を作用させ、細胞増殖ならびに石灰化への影響を評価した。また、歯髄細胞に *FOXC1* および *RUNX2* の siRNA を電気穿孔法で導入し、播種後 1 日目にアスピリン添加、播種後 4 日目に石灰化誘導を行った。*FOXC1*，*RUNX2*，*MCAM* の遺伝子発現の解析をデジタル PCR で、石灰化の評価をアリザリンレッド S 染色およびカルシウムアッセイで行い、以下の結果を得た。

1. 細胞増殖曲線にて、アスピリン 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 作用群で細胞増殖の低下を認めた。
2. アスピリン非作用群と比較して、アスピリン 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 作用群で石灰化促進と *FOXC1* および *RUNX2* の発現上昇がみられた。
3. アスピリン 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 作用群では、*FOXC1* ノックダウンにより *RUNX2* の発現が低下し、*RUNX2* ノックダウンにより *FOXC1* の発現が低下した。
4. *MCAM* の発現は、*FOXC1* ノックダウンと *RUNX2* ノックダウンにより共に 4 日目で低下し、7 日目で上昇した。

論文審査の結果の要旨

本研究により、アスピリンが歯髄硬組織形成の早期段階に作用し、*FOXC1*，*RUNX2*，*MCAM* の発現を介して石灰化誘導を促進することが示された。得られた知見は歯髄再生療法におけるアスピリン応用の有用性を強く示唆しており、歯学に寄与するところが多く、博士（歯学）の学位に値するものと審査する。

主査 添野 雄一
副査 高橋 幸裕
副査 谷 樹昌

最終試験の結果の要旨

宮坂直樹に対する最終試験は、主査 添野雄一教授、副査 高橋幸裕教授、副査 谷樹昌教授によって、主論文を中心とする諸事項について口頭試問が行われ、優秀な成績で合格した。