

Title	The effect of basic fibroblast growth factor on regeneration in a surgical wound model of rat submandibular glands
Author(s)	小林, 史卓
Journal	歯科学報, 117(2): 144-145
URL	http://hdl.handle.net/10130/4227
Right	
Description	

氏名(本籍)	こばやし ふみ たか 小林 史 卓 (長野県)
学位の種類	博士(歯学)
学位記番号	第 2082 号(甲第 1295 号)
学位授与の日付	平成27年3月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	The effect of basic fibroblast growth factor on regeneration in a surgical wound model of rat submandibular glands
掲載雑誌名	International Journal of Oral Science 第8巻 1号 16-23頁 2016年3月 doi: 10.1038/ijos.2015.36
論文審査委員	(主査) 柴原 孝彦教授 (副査) 井上 孝教授 東 俊文教授 山本 仁教授

論文内容の要旨

1. 研究目的

唾液腺組織は再生しにくい組織として知られており、大きな傷害を受けると、瘢痕組織による二次治癒の転帰を示す。今回、ラット顎下腺に大きな傷害を付与した創傷治癒モデルを作製し、コラーゲングルおよび bFGF を組み合わせて付与することで唾液腺組織再生を試みた。

2. 研究方法

実験動物には200gのSD系雄性ラットを用いた。麻酔下にてラット顎下腺を剖出し、直径3mmの欠損を生検パンチにて付与した。同部に bFGF を含んだコラーゲンを補填した。対照群は、bFGF を含まないコラーゲングルとした。その後の経時的にコラーゲンの容積変化を、また、ゲル内に発現した細胞を vimentin (線維芽細胞マーカー)、 α -SMA (筋上皮細胞マーカー)、pancytokeratin (Pan-CK) (導管上皮細胞マーカー)、CD49f・c-kit (幹細胞マーカー)、aquaporin 5 (AQP 5) (腺房細胞マーカー) を一次抗体とした免疫組織化学的に観察した。また α SMA, vimentin, keratin13 (導管上皮細胞) および keratin19 (未分化上皮細胞), aquaporin 5 の mRNA の発現を解析した。

3. 研究成績および考察

実験群では、創傷後5日目よりコラーゲングル内に類円形細胞および紡錘状細胞の浸潤が認められ、7、10日目では、侵入する細胞の増加がみられた。14日でコラーゲングルはほぼ消失し、細胞成分に富む組織に置換されていた。対照群の免疫組織化学染色の結果では、5日目でゲル周囲から侵入してきた細胞は主に α SMA 陽性細胞、わずかに vimentin 陽性細胞がみられた。7日目では、5日目で観察された細胞の増殖およびゲル内部への移動がみられた。また、CD49f, c-kit, Pan-CK, AQP 5 陽性細胞が観察された。実験群において、ゲル内へ侵入する α SMA, vimentin, PCK, CD49f, c-kit に陽性を示す細胞すべてにおいて対照群と比較して増加がみられた。mRNA の発現も同様の結果が認められた。対照群では、細胞の浸潤速度は、実験群に比べ遅く、その量も少なかった。また、mRNA の発現も有意に少なく、コラーゲングルの消失も21日目で確認された。これらの結果から、大きな傷害を受けた唾液腺組織にコラーゲングルと bFGF を組み合わせて用いることで、幹細胞や筋上皮細胞の増殖や分化を促進させ、腺房細胞を思わす細胞を認めたことから唾液腺組織再生の可能性が示唆された。

4. 結 論

コラーゲンゲルと bFGF を組み合わせて用いることは唾液腺組織再生に有用である可能性が示唆された。

論 文 審 査 の 要 旨

ラット顎下腺に大きな欠損を付与した創傷治癒モデルを作製し、コラーゲンゲルおよび bFGF を組み合わせて付与することで唾液腺組織再生を試みた。その結果、幹細胞や筋上皮細胞の増殖や分化を促進させ、腺房細胞を思わす細胞を認めたことから唾液腺組織再生の可能性を示すことができた。コラーゲンゲルと bFGF を組み合わせて用いることは唾液腺組織再生に有用である可能性が示唆された。

本審査委員会では、(1)bFGF の濃度を500ng/ml に設定した理由。(2)実験モデル作製時に主血管や主導管の損傷はおこらないのか。(3)ゴアテックス膜の固定法についてなどの質疑がなされた。

(1)については、bFGF が唾液腺組織に対して10ng/ml から影響を示し、至適濃度は100ng/ml~500ng/ml である。さらに、bFGF の半減期が2~3日であることから術後7日後には2回半減期が来ると考えられ、500 ng/ml→250ng/ml→125ng/ml となり、もっともゲル内に細胞が観察される術後7日においても至適濃度の100ng/ml を維持しているため、最初の段階で500ng/ml という濃度に設定した。(2)について、実験モデル作製時にラット顎下腺は肉眼的に主動脈を観察することができ、避けることが可能である。また、主導管も主動脈と並走しているため同様に避けることかできる解。(3)について、ゴアテックス膜は顎下腺全体を被覆後、折り返しことで膜と顎下腺組織を密着させ固定した。折り返し部は、欠損作成部には重ならないように設定し、各屠殺時期にも膜が動いていないことを確認していると概ね妥当な解答が得られた。また用語、英文表記、図表の修正等、について多くの指摘が行われた。

論文内容及びその質疑により概ね妥当な回答が得られたことにより、本研究は今後の歯学の進歩、発展に寄与するところ大であり学位授与に値すると判定した。