

## 学 位 論 文 審 査 の 要 旨

論文提出者	玄 太裕
論文審査委員	(主査) 朝日大学歯学部 教授 堀田 正人 (副査) 朝日大学歯学部 教授 江尻 貞一 (副査) 朝日大学歯学部 教授 田沼 順一 (外部審査) 武庫川女子大学院健康スポーツ科学研究科 教授 山添 光芳
論文題目 <p style="text-align: center;">低出力パルス超音波はマウス筋芽細胞の分化を促進する</p>	
<p><u>論文審査の要旨</u></p> <p>低出力パルス超音波 (low-intensity pulsed ultrasound, LIPUS) は組織再生を促進すると考えられており、広く臨床で応用されている。口腔内には様々な組織があり、それぞれの細胞に対して LIPUS がどのような影響を与えるのか、詳細には報告されていない。本研究ではマウス骨格筋由来の筋芽細胞株 C2C12 細胞が筋分化する過程における LIPUS の作用に着目し、LIPUS を照射して分化誘導 2, 3, 5, 7 日後の遺伝子とマイクロ RNA(miRNA) の発現をリアルタイム PCR 法を用いて定量している。そして、LIPUS 照射が筋線維へ分化中の C2C12 細胞の遺伝子と miRNA 発現パターンにどのような影響を与えるか検討したものである。</p> <p>まず、C2C12 細胞の筋分化の指標として、蛍光免疫染色法により筋特異的なタンパク質であるミオシン重鎖 (MHC) を検出し、LIPUS 照射によって MHC 陽性細胞が多数観察され、その細胞の長径も非照射に比べて有意に長く、筋特異的なタンパク質の発現と細胞融合の両方が促進しているとしている。また、LIPUS 照射の有無に関わらず、分化誘導させた C2C12 細胞にはカルシウムの沈着がないことを von Kossa 染色法により確認し、骨への分化を誘導することはないとしている。</p> <p>次に、筋芽細胞が筋分化するためには筋特異的な遺伝子が発生し、単核細胞が融合して線維状の多核細胞を形成することから、LIPUS 照射による筋分化促進作用が筋分化のどの段階を促進するのかを明らかにするため、細胞融合に関するシグナル促進因子の ERK5、転写活性因子の Klf2、これらの下流因子の細胞接着因子の Cdh15、筋特異的な遺伝子の転写活性因子の MyoD と Myogenin、分化最終段階で発現される MCK を選択し、遺伝子発現量を精査している。LIPUS 照射によって ERK5、Klf2、Cdh15 遺伝子の転写量は照射 6 時間後に増大し、細胞融合を促進していることを示唆し、照射 6 日後には ERK5、Cdh15 遺伝子の転写量が再び増大し、照射により多くの細胞が融合して長くなっているとしている。また、LIPUS 照射によって筋特異的な遺伝子 MyoD、Myogenin の発現も促進され、筋分化の最終マーカーの MCK は分化段階の早期から発現が増大しており、筋として機能する細胞がより早く完成していると述べている。</p> <p>さらに、筋に存在する 10 種類の miRNA の関与についても検討し、LIPUS 照射により遅筋化を促進する miRNA-499 の発現が促進されており、遅筋の割合が多くなっていることを示唆している。</p>	



以上のように C2C12 細胞の筋分化過程における低出力パルス超音波照射は筋細胞への分化を促進させることを明らかにし、再生医療への応用に向け、極めて価値ある所見を提供したものであり、審査委員は博士(歯学)の学位を授与するに値するものと判定した。

