

論文審査の結果の要旨

氏名：佐藤 桃子

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：過剰歯歯髄由来間葉系細胞の特性

審査委員：（主査） 教授 鈴木直人 ㊞

（副査） 教授 白川哲夫 ㊞ 教授 磯川桂太郎 ㊞

教授 清水典佳 ㊞

間葉系幹細胞（MSCs）は自己複製能および多分化能を有し、近年では臨床応用に向けた様々な研究が行われている。象牙質再生能を持つことが知られている歯髄は、抜歯された歯から比較的容易に採取できることから、MSCsの細胞源として期待されている。歯髄由来の間葉系幹細胞は、骨髄由来のMSCsと比較して、高いコロニー形成能、増殖能および多分化能を有することが報告されている。歯髄由来のMSCsは永久歯および乳歯において同定されたが、近年、過剰歯の歯髄にもMSCsが存在すること明らかとなった。

過剰歯とは通常の本数以上に存在する歯の総称であり、乳歯列における出現頻度は0.2-0.8%、永久歯列での出現頻度は0.5-5.3%とされている。最も高頻度で出現する部位は上顎の正中部であり、正中過剰歯とよばれる。正中過剰歯の出現頻度は0.15-1.9%であり、女性よりも男性に高い頻度で現れる。過剰歯は、歯列不正の原因となることが多いため、抜歯による治療が第一選択となる。過剰歯は、MSCsの細胞源として有用と考えられるが、過剰歯の歯髄由来MSCsの特性に関する報告はきわめて少ない。

そこで、本論文の著者は、日本大学歯学部附属歯科病院小児歯科にて抜歯した上顎正中過剰歯10歯（5～8歳）を対象として、表面抗原、コロニー形成能、細胞増殖能、未分化マーカーの発現および分化能について解析することで過剰歯の歯髄に存在するMSCsの特性を検討した。その結果、以下の結果および結論を得ている。

1. 本研究で用いた過剰歯10歯中9歯が上顎正中部に存在した逆生の埋伏過剰歯であり、1歯が上顎乳歯列正中部に存在した順生歯であった。過剰歯の形態は円錐状が6歯、犬歯様が4歯であった。
2. FACSを用いた細胞表面抗原のフローサイトメトリ解析では、MSCsに共通のマーカーであるCD13, CD44, CD73, CD90, CD105 および CD146 が高い発現を示した。一方、MSCsに共通のマーカーの中でCD271, STRO-1そしてSSEA4の発現は低かった。
3. 10歯すべてでコロニー形成が認められ、最初に播種した100細胞から形成されたコロニーの比率は、 $46.6 \pm 5.1\%$ であった。
4. 細胞増殖能では、培養細胞を播種後2日目、4日目および6日目において細胞数はそれぞれ約2倍に増加し、6日目から8日目にかけては、約5倍の増加が認められた。10日から12日目においては細胞数の増加は認められなかった。また、細胞周期の解析において、DNA合成期における細胞の割合は19.4%を示し、細胞分裂期の12.0%と比較して高い傾向を示した。
5. RT-PCR解析において未分化マーカー（c-Myc, Sox2, Nanog, Oct4, Klf4, Rex1）の発現が認められた。
6. 骨芽細胞への分化誘導実験では、21日間の培養の過程で、アルカリホスファターゼ活性の上昇とアリザリン赤陽性の石灰化noduleが観察された。また、Ca沈着量もコントロール群と比較して有意に高かった。脂肪細胞への分化誘導実験では、培養46日目にオイルレッドO陽性細胞が観察された。しかし、陽性細胞数は1培養ディッシュあたり1～2個であった。

これらの結果から、正中過剰歯歯髄由来の間葉系細胞群には、硬組織形成細胞に分化しうるMSCsが含まれると示唆された。

以上のように、本研究は、再生治療における幹細胞の供給源として過剰歯歯髄が有用であることを示唆したもので、小児歯科学および関連歯科医学分野に寄与するものと考えられた。

よって本論文は、博士（歯学）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以上

平成26年3月5日