

論文審査の結果の要旨

氏名：鳥 海 拓

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：Mesenchymal progenitor cells in the root pulp of human primary teeth

（ヒト乳歯の歯根部歯髄間葉系細胞に関する研究）

審査委員：（主査） 教授 高 橋 富 久

（副査） 教授 磯 川 桂太郎

教授 白 川 哲 夫

教授 鈴 木 直 人

近年、ヒトの乳歯と永久歯の歯髄には間葉系幹細胞（MSC）の特性を保持した幹細胞の存在が報告されている。特に脱落した乳歯の歯髄幹細胞は永久歯と比較して、高い細胞増殖能と分化能を維持し、また胚性幹細胞（ESC）マーカーの顕著な発現がみられることが知られている。歯はしばしば歯冠部と歯根部に分けて論じられるが、歯冠部と歯根部に分布する歯髄間葉系幹細胞の詳しい分化パターンについては未だ明らかにされていない。そこで本論文の著者は、乳歯歯根部の歯髄間葉系細胞（歯根細胞）と乳歯歯冠部の歯髄間葉系細胞（歯冠細胞）にみられる幹細胞としての細胞特性を明らかにするために、細胞生物学的な研究を行うとともに iPS 細胞樹立効率の差異を比較検討した。具体的に細胞特性については主に FACS 解析、PCR、組織化学的検索で、また iPS 細胞は OCT3/4、SOX2、KLF4、c-MYC の 4 遺伝子を歯髄細胞に導入することによって作成し、形態学的変化と ESC マーカーの発現、DNA の脱メチル化およびテラトマ形成能等を指標にその樹立効率を検討し、以下の結果を得ている。

1. 歯根細胞の細胞表面抗原は歯冠細胞と同じ傾向を示し、CD105 と CD146 の発現は高かったが、STRO-1 と SSEA-4 の発現は低かった。
2. 歯根細胞の KLF4 発現は歯冠細胞より有意に高く、約 2 倍であったが、c-MYC の発現は同程度であった。
3. 歯根細胞のコロニー形成能は歯冠細胞より有意に高く、約 2.4 倍であった。歯根細胞の培養 6、10 日目の増殖細胞数は歯冠細胞より有意に大きかった。また、培養 7 日目において、S 期および G2+M 期にある歯根細胞の割合は歯冠細胞より高い傾向があった。
4. 骨芽細胞分化誘導によって、歯根細胞は歯冠細胞と同様に培養 21 日目でアリザリンレッド陽性の石灰化 nodule を認めた。
5. 脂肪細胞分化誘導によって、歯根細胞には歯冠細胞と同様に培養 35 日目にオイルレッド O 陽性の細胞内脂肪滴を有する細胞が出現した。
6. 歯冠細胞と歯根細胞のいずれからも ESC 様形態のコロニー形成細胞（iPS 細胞）が樹立された。
 - 1) 樹立効率は、4 因子の場合、歯冠細胞で 0.0165%、歯根細胞で 0.0535%、3 因子の場合、歯冠細胞で 0.0036%、歯根細胞で 0.0160% であり、歯根細胞からの樹立効率は歯冠細胞の約 3-4 倍高かった。
 - 2) 樹立された iPS 細胞は、ESC マーカーを発現し、NANOG、OCT3/4 および REX1 のプロモーター領域には、由来細胞と比較して広範な脱メチル化が生じていた。さらに、奇形腫形成実験では、三胚葉の組織に分化し得ることが確認された。

以上の結果から、ヒト乳歯歯根部の歯髄に含まれる MSC の特性を持つ細胞は歯冠部のものより細胞増殖能、KLF4 の発現および iPS 細胞樹立効率が高いことが明らかになった。本研究はヒト乳歯歯根部歯髄の MSC が組織再生および iPS 細胞の作製とそれに続く移植療法にとって有益な細胞源となる可能性が示唆され、基礎歯科医学および再生医療分野の研究発展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 27 年 3 月 11 日