

論文の内容の要旨

氏名：金尾 真吾

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：Gene Expression of Neural Markers in Human Dental Follicle Cells

（ヒト歯嚢由来細胞における神経系マーカーの遺伝子発現）

神経組織は再生能力が低く、一度損傷すると再生は困難であると考えられてきた。近年、神経外傷や神経変性疾患によって損傷した神経組織の再生に向けて、様々な研究が行われている。成人の中枢神経にも神経幹細胞が存在していることが報告され、神経幹細胞を用いた神経再生医療の研究が行われている。しかし、ヒト成人の生体から神経幹細胞を採取することは困難であることから、分化多能性を有するES細胞や間葉系幹細胞の応用が注目されている。骨髄由来ヒト未分化間葉系幹細胞 (human mesenchymal stem cells from bone marrow: hMSCs) は、骨芽細胞や脂肪細胞などへの多分化能を有し、腫瘍形成の危険性がほとんどないことから、様々な再生医療において臨床応用されている。

hMSCsを得るためには、治療部位とは異なる部位に、骨髄液採取のための生体侵襲が必要となる。そこで、侵襲が少なく、治療に必要な細胞数が十分に得られる細胞源の検索が行われている。

歯嚢は、歯科治療の過程で破棄される外胚葉性間葉系組織由来の結合組織であり、新たな生体侵襲を加えることなく、採取することが可能である。ヒト歯嚢から分離したヒト歯嚢由来細胞 (human dental follicle cells: hDFCs) は、幹細胞マーカーや間葉系細胞マーカーが発現していることから、hDFCsはhMSCと類似した性質を有していると考えられる。さらに、hDFCsはhMSCsと比較し、細胞増殖能が優れているとの報告もある。そのため、hDFCsは、体性幹細胞を利用した神経再生医療の基礎的研究において有用ではないかと示唆される。

本研究では、hDFCの神経系細胞への分化能を調べるため、hDFCsで神経系細胞マーカー遺伝子が発現しているか microarray 解析を用いて調べた。次に、hDFCsを間葉系幹細胞用神経細胞分化誘導培地 (Mesenchymal Stem Cell Neurogenic Differentiation Medium; NDM) で培養し、神経系細胞マーカー遺伝子の経時的な発現変化を Real time-PCR を用いて調べた。

- 1) microarray 解析の結果、各種細胞への分化誘導を行っていない hDFC では、神経幹細胞マーカーである *Nestin (NES)*、神経前駆細胞マーカーである *Musashi (MSI)-1*、と-2、神経細胞マーカーである *tubulin- β -III (TUBB3)*、グリア細胞マーカーである *myelin basic protein (MBP)* の発現を認めた。
- 2) *NES* は神経細胞への分化誘導の有無に関わらず、hDFCs では恒常的に発現していた。また、*MSI-1*、*-2* は NDM での培養により経時的な発現上昇を示し、さらに GM での培養と比較して、遺伝子発現量は高かった。
- 3) 神経細胞マーカーである *microtubule-associated protein 2 (MAP2)* は、NDM で培養した hDFCs では、GM での培養と比較し、遺伝子発現量は高かった。hDFCs における *TUBB3* の発現は、NDM および GM での培養で差は認められなかった。
- 4) グリア細胞マーカーである *glial fibrillary acidic protein (GFAP)* および *MBP* の発現量は、NDM および GM で培養した hDFCs では、共に培養3日目に発現減少し、培養7日目に発現上昇した。また、NDM で培養した hDFCs における両マーカーは、GM での培養と比較し、発現量は高かった。

以上の結果から、分化誘導前のヒト歯嚢由来細胞には、神経系細胞マーカー遺伝子が発現していた。また、間葉系幹細胞用神経細胞分化誘導培地で培養することで、神経系細胞マーカー遺伝子の発現上昇が認められた。よって、ヒト歯嚢由来細胞は神経再生の基礎的研究または医療応用に有用である可能性が示唆された。