

論文審査の結果の要旨

氏名：金 尾 真 吾

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）

審査委員：（主査）教授 吉垣 純子

（副査）教授 久山 佳代

教授 近藤 壽郎

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、骨髄由来ヒト未分化間葉系幹細胞 (human mesenchymal stem cells from bone marrow: hMSCs) 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。hDFCsは、再生医療応用または基礎的研究用の体性幹細胞としての有用性が考えられている。

神経幹細胞は自己複製能を有し、神経細胞、グリア細胞へ分化する多分化能を持つ、神経系の組織幹細胞である。近年、ヒト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、神経幹細胞の神経再生医療応用が注目されている。しかし、ヒト成体内から神経幹細胞を採取することは困難であることから、様々な組織から採取した成体組織幹細胞を、神経系細胞へ分化誘導させる、神経再生に関する基礎的研究が行われている。

著者は、hDFCs の神経系細胞への分化能を調べるため、分化誘導前の hDFCs に、神経系細胞マーカー遺伝子が発現しているかを 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 を用いて検討し、以下の結果を得た。

- 1) microarray 解析の結果、神経系細胞への分化誘導前の 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。

本論文は、神経系細胞への分化誘導前の hDFCs で、神経系細胞マーカー遺伝子が発現していること、hDFCs を間葉系幹細胞用神経細胞分化誘導培地で培養すると、神経系細胞マーカー遺伝子が発現上昇することを明らかにした。

これらの結果から、hDFCs には神経系細胞への分化能を有する細胞が存在する可能性が示されると同時に、歯嚢が神経再生医療のための細胞供給源候補となる可能性を示唆した。

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 29 年 2 月 23 日