

## 論文の内容の要旨

氏名：加藤 有悟

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：Histological study and localization of stem/progenitor cells in human dental follicle

(ヒト歯嚢の組織学的研究および幹細胞分布について)

歯嚢は、神経堤由来の外胚葉性間葉からなる結合組織で、未分化間葉系幹細胞が存在すること、歯嚢から分離したヒト歯嚢由来細胞 (human dental follicle cells: hDFCs) は、骨芽細胞誘導培地 (osteogenic induced medium: OIM) で培養すると石灰化することが報告されている。hDFCs は脂肪細胞、セメント芽細胞や歯根膜線維芽細胞にも分化すること、さらに、適切な培地および足場上で培養することで、外胚葉系の神経系細胞へも分化することが明らかにされている。hDFCs は骨髄由来ヒト未分化間葉系幹細胞 (human mesenchymal stem cells: hMSCs) と比較して細胞増殖能が優れているとの報告もある。歯嚢は、歯科治療の過程では破棄される組織であり、新たな生体侵襲を加えることなく採取できることから再生医療の細胞源としての可能性を有している。歯嚢の組織学的構造に関する研究はほとんど行われておらず、組織幹細胞が歯嚢組織のどの部位に多く分布しているかも不明である。

間葉系幹細胞は、組織幹細胞の中でも最も広く再生医療応用が開始されている細胞である。しかし、その起源、局在、細胞学的特徴などは未知な部分が多い。間葉系幹細胞は、まず機能から定義された細胞であるが、最近ではその機能自体も多岐にわたるようになり、間葉系幹細胞の定義も不明瞭となりつつある。一方、間葉系幹細胞の検出や分離を行うために、幹細胞マーカーに関する研究が数多く行われてきた。現在までに、CD29, CD44, CD73, CD90, CD105, CD106 および Stro-1 で陽性、CD34, CD45, HLA-DR は陰性を示すとのことである。加えて CD140b, CD146, CD271 陽性、CD90, CD106, CD271 を共発現している場合、間葉系幹細胞は多分化能を有し、増殖能に優れているとの報告もある。さらに、未分化性の維持や細胞-細胞間のシグナル研究から、CD15 や Notch-1 が幹細胞表層に発現していることが明らかにされている。

本研究では、歯嚢の組織学的特徴を明らかにすることとともに、体性幹細胞の局在を検討することを目的に、成人埋伏智歯抜歯時に採取した歯嚢の PAS アルシアン青による特殊染色および抗 CD90, CD106, CD271, CD15, Stro-1, Notch-1 抗体を用いた免疫化学染色を行い、以下の結果を得た。

- 1) 歯嚢組織の概形は歯冠を包むようなキャップ状の形態を呈していた。
- 2) 歯嚢組織の厚さは歯頸部付近では薄く、歯冠部付近では歯頸部と比較すると肥厚していた。
- 3) 矢状断面では、三層構造を有し最も外側の層 (外層) は線維芽細胞様細胞を含む疎性線維性結合組織で構成され、また末梢神経も確認された。
- 4) 内側の層 (介在層) は高密度の線維芽細胞様細胞を伴う緻密性線維性結合組織で構成され、エオジン好性のコラーゲン線維束が認められた。また、コラーゲン線維の走行は内側では整っていたが、外側では不規則な走行であった。
- 5) 最も内側の層 (内層) では、比較的高密度な毛細血管、歯原性上皮島、紡錘形もしくは楕円形の核を有する間葉系細胞が観察された。
- 6) 歯嚢組織と歯冠部との間に、菲薄な一層ないし二層の退縮エナメル上皮が認められた。
- 7) 矢状断面では、アルシアン青の弱陽性所見を背景に PAS 反応で弱陽性の外層、陽性の介在層、弱陽性の内層の三層構造が観察された。
- 8) Stro-1 は核に陽性反応が認められた。また、CD15, CD90, CD106, CD271, Notch-1 は細胞質に陽性反応が認められた。
- 9) CD271 陽性細胞は、歯嚢の歯冠側外層に多く認められた。
- 10) CD90, CD106 陽性細胞は歯嚢の歯冠側内層に多く認められた。
- 11) CD15, Stro-1, Notch-1 陽性細胞は、歯嚢の歯頸側外層に多く認められた。

以上の結果から、歯嚢組織には、末梢神経が多く存在する外層、緻密性線維性結合組織からなる介在層、毛細血管、歯原性上皮島や間葉系細胞が多くみられる内層の三層構造が認められた。また、幹細胞マーカーを発現する細胞は、歯嚢外層に多く認められた。このことより歯嚢組織の領域ごとに幹細胞の分布に差が認められた。