

論文審査の結果の要旨

氏名：中 村 純 基

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：マウス歯根膜における leptin receptor 陽性細胞の幹細胞性と LRP1 陽性細胞の役割について

審査委員：（主査） 教授 磯 川 桂太郎

（副査） 教授 本 吉 満

教授 篠 田 雅 路

教授 高 橋 富 久

Leptin シグナルは間葉系幹細胞の細胞分化に関わっているとされる。骨髄においては leptin receptor (Lepr) 陽性細胞が骨芽細胞、脂肪細胞および軟骨細胞への分化能を有し、抜歯窩においては Lepr 陽性細胞が骨再生に関与するとの報告がある。また、低密度リポタンパク受容体ファミリーに属する膜タンパク low-density lipoprotein receptor-related protein 1 (LRP1) を欠失した骨芽細胞では、RANKL の産生が亢進して破骨細胞分化が促されるが、LRP1 発現を抑制した前駆破骨細胞では破骨細胞分化が阻害されるという。したがって、LRP1 は骨代謝および骨再生の調節にも関わっていると考えられる。

そこで本研究では、歯根膜組織から Lepr 陽性細胞を分離し、その幹細胞性と分化能を検証するとともに、抜歯窩の治癒過程における LRP1 陽性細胞の動態、さらに LRP1 の発現抑制が骨形成関連因子へ及ぼす影響について検討を行った。

実験に供した歯根膜細胞 (PDLs) は、6 週齢 ddy 雄性マウスの臼歯歯根膜組織から酵素処理によって調製した。Lepr 抗体とビーズ標識二次抗体を利用する磁気分離カラムで、PDLs を Lepr 強発現の吸着群 (Lepr^{hi} PDLs) と非吸着群 (Lepr^{fl} PDLs) とに分けた。両群を通常培地あるいは分化誘導培地で培養した後に、間葉系幹細胞マーカー (*cd29*, *cd44*, *cd73*, *cd90*, *cd105*, *cd106*, *cd146*)、骨芽細胞マーカー (*alkaline phosphatase*, *osterix*, *osteocalcin*) および脂肪細胞マーカー (*adiponectin*, *c/ebp*) などの遺伝子発現や lipid droplet 形成について、Lepr^{hi} PDLs と Lepr^{fl} PDLs とで比較検討した。また、上顎臼歯の抜歯後 1, 3, 5, 7 および 10 日目に、micro-CT によって抜歯窩の骨再生過程を観察し、組織切片の精査によって抜歯窩内における治癒の過程および LRP1 陽性細胞の出現状況を調べた。一方、培養 PDLs については、siRNA の導入による LRP1 の発現抑制が、*bmp2*, *bmp4*, *opg* および *rankl* の遺伝子発現に及ぼす影響を検討した。

その結果、以下の所見および結論を得た。

1. PDLs に Lepr 陽性細胞の存在を確認した。
2. Lepr^{hi} PDLs には、幹細胞マーカーの *cd44*, *cd73*, *cd90*, *cd105*, *cd146* が発現しており、また、骨芽細胞と成熟脂肪細胞への分化能も認められた。
3. LRP1 陽性細胞は、抜歯後 3 日の窩内にみられ、骨芽細胞に分化して抜歯窩の骨再生を誘導した。
4. LRP1 の発現抑制によって、PDLs の *bmp-2*, *bmp-4*, *opg* の発現が抑制され、*rankl* の発現が亢進した。

以上のように、本研究は、歯根膜細胞に存在している Lepr 陽性細胞が、幹細胞性および多分化能を保持しており、また、抜歯窩に出現する LRP1 陽性細胞が、抜歯窩修復に関わる骨形成関連因子の発現調節に関わることを示すもので、歯科医学領域の研究および臨床、とくに抜歯窩治癒における骨再生の理解進展に資するものと考えられる。

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

令和 4 年 3 月 1 0 日