

# 論文審査の要旨および担当者

愛知学院大学

報告番号	① 乙 第 号	論文提出者名	中山 英典
論文審査 委員氏名	主査  副査	栗田 賢一  下郷 和雄  三谷 章雄  本田 雅規	
論文題名	若齡根未完成智齒由来膜分取齒髓幹細胞の形質評価		

インターネットの利用による公表用

間葉系幹細胞を用いた治療が数多く行われており、それらに用いられる細胞は、使用する細胞分画によって細胞治療の有効性に影響を及ぼすことが知られている。歯髄幹細胞の分画分取のために開発された膜遊走分取法は、安全性や費用対効果が高く、これまでに歯根が完成したヒト若齢および高齢の歯由来の歯髄幹細胞に適用することにより、組織再生に有効な形質を持った細胞分画を分取出来ることがわかっている。一方、若齢根未完成由来の歯髄幹細胞は多くの歯髄幹細胞を分離でき、増殖能や分化能が高いことが知られ、優れた細胞源であるといえるが、その分画分取の必要性は検討されていない。そのため本研究は、若齢根未完成歯由来歯髄幹細胞の分画分取の必要性および膜遊走分取法の有効性を明らかにすること目的として、若齢根未完成歯由来の膜分取歯髄幹細胞と未分取の歯髄幹細胞の比較検討を行ったものである。

研究材料と方法として、まず、根未完成第三大臼歯を患者および保護者より書面での同意を得て収集し、コロニー形成法により歯髄幹細胞を、さらに膜遊走分取器を用いて膜分取歯髄幹細胞を分取、継代培養した。それぞれの細胞の機能を評価するため、フローサイトメトリーにより表面抗原マーカー発現を、TAXIScan-FLを用いて細胞の遊走能を、Real-Time RT-PCRにより mRNA 発現の比較を、さらに多分化能を比較した。次に、それぞれの培養上清を用いて、培養上清による NIH3T3 細胞の増殖促進効果、遊走促進効果、抗アポトーシス効果を検討し、さらに *in vitro* における血管内皮細

胞分化および神経突起伸長作用を比較した。In vivo においては、マウス異所性歯根移植モデルを用い、それぞれの細胞の歯髄再生能と血管新生能を検討した。

若齢根未完成歯由来歯髄幹細胞から膜遊走分取器を用いて分取した膜分取歯髄幹細胞は、未分取に比べて、フローサイトメトリーにおいて高い CXCR-4 および G-CSFR 発現を認め、Real-Time RT-PCR においては、高い幹細胞マーカー、血管誘導因子・神経栄養因子関連の mRNA 発現がみられた。さらに、膜分取歯髄幹細胞は高い遊走能を示し、分化誘導においても高い血管誘導能および神経誘導能を示した。また、膜分取歯髄幹細胞の培養上清を添加することにより、未分取に比べ、NIH3T3 細胞の増殖および遊走を促進し、アポトーシスを抑制することが示され、血管内皮細胞分化促進、神経突起伸長作用も優れていた。さらに、異所性歯根移植実験においては、歯髄再生の割合、組織の細胞密度および血管密度は、膜分取歯髄幹細胞移植群が有意に高かった。

これらの結果は、若齢根未完成歯由来の歯髄幹細胞においても、膜遊走分取法を用いた分画分取は有効な手段であることを示した。また若齢根未完成歯由来の膜分取歯髄幹細胞は未分取と比べてホーミング効果に関わる有用な細胞表面マーカー発現および遊走能を有し、加えて多くの trophic 因子の分泌が明らかとなったことから、移植細胞が局所へ遊走し、細胞の分泌する trophic 因子により、組織再生を促進することが示唆され、幹細胞治

(論文審査の要旨)

No. .... 3 .....

(2000字以内のこと)

愛知学院大学

療における有用性が明らかとなった。

本研究は、歯髄幹細胞を利用した今後の再生医療の発展に貢献するものであり、口腔外科学、歯科保存学、および関連諸学科に寄与するところが大きい。よって本論文は博士（歯学）の学位授与に値するものと判断した。