

ヒト歯髄組織幹細胞を応用した歯髄再生療法の開発 を目指した橋渡し研究

園田, 聡一郎

<https://hdl.handle.net/2324/1937190>

出版情報 : Kyushu University, 2018, 博士 (歯学), 課程博士
バージョン :
権利関係 :

氏 名 : 園田 聡一郎

論 文 名 : ヒト歯髄組織幹細胞を応用した歯髄再生療法の開発を目指した橋渡し研究

区 分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

歯髄は再生しない組織である。そのため、不可逆性歯髄炎に罹患した場合、歯髄組織は抜髄処置を受け、ガッタパーチャポイントなどの人工材料により置換される。歯髄再生を基盤とする歯内治療の開発は、幹細胞特性を考慮すると、ヒト歯髄組織幹細胞の応用が非常に望ましい。歯髄再生治療において自家永久歯の歯髄幹細胞 **dental pulp stem cells (DPSCs)** の応用は、その安全性面から、優れた方法と考えられる。しかし、患者自身の健常歯ドナーを得る機会が限定されているため、現状では健常歯 DPSCs (健常 DPSCs) を用いた自家移植治療の有用性は限られている。不可逆性歯髄炎組織より単離される DPSCs **irreversible pulpitis-derived dental pulp stem cells (IP-DPSCs)** の歯髄再生への応用は、安全性の担保に加えて、ドナー不足の解消ならびに細胞ソースの確保の観点から、自家移植による治療への有用性が高いと考えられる。しかし、IP-DPSCs の細胞特性が十分に明らかになっておらず、それを応用した再生治療は不確実である。そこで、本研究の研究 I では、まず IP-DPSCs の **stemness** を解析した。IP-DPSCs では、コロニー形成能、細胞増殖能、多分化能、*in vivo* における象牙質再生能、免疫抑制能を示した。しかし、健常 DPSCs と比較して、それら全ての能力は劣っていた。これらの結果から、IP-DPSCs を用いた自家移植治療は、歯髄再生を十分に期待できない可能性が示唆された。そこで、障害を受けた IP-DPSCs の象牙質再生能ならびに免疫抑制能の改善を試みた。*Ex vivo* における **interferon gamma (IFN- γ)** 処理により、IP-DPSCs の *in vivo* における象牙質再生能と *in vitro* における免疫抑制能が改善した。一方、**tumor necrosis factor alpha (TNF- α)** 処理によっては、それらの能力に対して改善効果を示さなかった。以上の結果から IFN- γ は障害された IP-DPSCs の機能を回復させる上で有効な制御因子であることが示された。従って、IFN- γ 処理により機能が回復された IP-DPSCs の応用は、将来の歯内療法における、IP-DPSCs 自家移植による歯髄再生治療を確立する上での新規の基盤技術と考えられる。歯髄組織を用いた歯髄再生治療を実現するにあたり、ドナー細胞の量と質の検討が必要である。従って、ドナー歯から高い **stemness** を維持し、かつ大量の幹細胞を得ることが望ましい。そこで、研究 II では、歯髄組織幹細胞の単離過程における条件検討により、より良質で大量の歯髄幹細胞が得られるのではないかと仮説を立てた。そこで、歯髄組織幹細胞の単離過程において使用するウシ胎児血清 **fetal bovine serum (FBS)** の濃度が、単離される歯髄組織幹細胞の **stemness** ならびに単離数へ与える影響を解析した。5%、10%、15%の FBS 濃度条件下にて、脱落乳歯歯髄組織より幹細胞の単離ならびに **stemness** 解析を行った。単離方法は、間葉系幹細胞 **mesenchymal stem cells (MSCs)** の単離で最も標準的な手法である **colony forming unit-fibroblasts (CFU-F)** 法を用いた。また、**stemness** の解析は、細胞増殖能ならびにフローサイトメトリーによる表面抗原の発現にて行った。形成したコロニー数、コロニー毎の細胞数、細胞増殖能、免疫学的表現型から、10%FBS 濃度の培地で単離を行った群は、他の 2 群よりも幹細胞としての高い特性を示した。従って、CFU-F 法による歯髄由来幹細胞の単離過程において、FBS 濃度を 10%と変更することにより、従来法 (FBS 濃度 15%) と比べて、より幼若で **stemness** の優れた歯髄組織幹細胞を単離する技術を確立した。