

審査の結果の要旨

氏名 新村優佳

歯の再生治療を実現するために有効な上皮細胞源は現在見つかっていない。そこで本研究では歯の再生治療に向けた新規細胞源として、唯一成体内に存在している歯性上皮細胞であるマラッセの残存上皮細胞 (epithelial cell rests of Malassez : ERM) に着目した。細胞の特性を解析し、再生治療に応用するためには長期培養が有効だが、間葉細胞と違い上皮細胞の長期培養は困難であり、ERM も特性の解析は進んでおらず、長期培養法も完全には確立していなかった。

そこで、マウスの 3T3 細胞をフィーダーレイヤーとして用いた歯胚上皮細胞の長期培養法の技術をブタの ERM の長期培養に応用し、長期培養法を確立後 ERM の特性の解析を試み、更に培養した ERM のエナメル質形成能の評価を行い、下記の結果を得ている。

1. 3T3 細胞をフィーダー細胞に用いると ERM は表現型を維持したまま 10 継代目まで培養が可能であり、コラーゲンコートディッシュ上に直接播種したときよりも高増殖能を示した。
2. 培養した ERM は、上皮細胞のマーカーである cytokeratin2 と desmoglein1、エナメルたん白のマーカーである ameloblastin、エナメルたん白関連遺伝子のマーカーである tuftelin の発現が見られた。ERM の遺伝子発現は他の口腔関連上皮細胞である歯胚上皮細胞や口腔粘膜上皮細胞と異なっていた。
3. in vitro で歯髄細胞と共培養することで、ERM は amelogenin の発現が観察され、エナメル芽細胞へ分化したことが示唆された。コントロールとして 3T3 をフィーダーレイヤーとして培養したときには ERM に amelogenin の発現は見られなかった。
4. ERM と歯髄細胞をコラーゲンスポンジに播種しラットの大網に移植をすると、2 週間後の移植物において上皮細胞塊が確認された。移植 4 週間後の移植物においては、amelogenin に陽性のエナメル芽細胞の配列を認めた。移植 8 週間後の移植物においてはエナメル質様の構造が観察された。コントロールとして、ERM の代わりに口腔粘膜上皮細胞と歯髄細胞を同様にして移植したものは、骨様硬組織は観察されたもののエナメル芽細胞等へ分化した細胞は観察されなかった。
5. 3T3 細胞の代わりに同種 (ブタ) の口腔関連間葉細胞 (3 種類) をフィーダー細胞に用いても ERM は表現型を維持したまま継代培養が可能であった。
6. ERM の細胞数を少量にすると、3T3 細胞をフィーダー細胞に用いるよりも

3種類のフィーダー細胞を用いる方がERMは高増殖能を示した。

以上、本論文は、フィーダー細胞を用いることによりERMは長期培養が可能となることを示し、更に3T3細胞よりも同種の細胞をフィーダー細胞として用いた方が高増殖能を示すことを明らかにしたことから、自己の細胞をフィーダー細胞に用いても長期培養できる可能性を示すことができた。

又、成体内に存在する上皮細胞であるERMはエナメル芽細胞への分化能を有し、歯髄細胞と合わせて移植をするとエナメル質を再生することが示されたことから、ERMは歯の再生治療の新規細胞源となりうる可能性が示めされたと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。



