

ヒト歯髄細胞の分子生物学的解析

徳田 吉彦

松本歯科大学 大学院歯学独立研究科 硬組織疾患制御再建学講座
(主指導教員: 山田 一尋 教授)

松本歯科大学大学院歯学独立研究科博士 (歯学) 学位申請論文

Molecular biological analysis of human dental pulp cells

YOSHIHIKO TOKUDA

*Department of Hard Tissue Research, Graduate School of Oral Medicine,
Matsumoto Dental University
(Chief Academic Advisor : Professor Kazuhiro Yamada)*The thesis submitted to the Graduate School of Oral Medicine,
Matsumoto Dental University, for the degree Ph.D. (in Dentistry)

現在, 再生医療の材料として, 胚性幹細胞 (ES 細胞) や人工多能性幹細胞 (iPS 細胞), 成体幹細胞そして自己骨髄細胞が存在する. これらの細胞には臨床応用の為の様々なハードルが存在するなかで, 現在様々な研究が進められている.

ES 細胞を用いた再生医療においては, 本人への ES 細胞の移植は不可能であり, 他者の ES 細胞も免疫拒絶反応の為不可能である. また, 受精卵を用いる為, 倫理的問題も存在する. さらに, ES 細胞が全分化能を有する為, 移植後容易に奇形腫を形成し, 目的の細胞への分化制御, 培養条件の検討が困難であるという欠点がある. iPS 細胞に関しては, 作製に関する研究が飛躍的に発展しており, 現在生体移植も行われるようになった. しかし, iPS 細胞の悪性腫瘍化, また全分化能を有している為, 奇形腫の形成など課題も多く残されている. 成体幹細胞は一種類以上の細胞に分化可能で, ES 細胞と異なり特定の系統の細胞にのみ分化するというメリットがあるものの, 成

体幹細胞治療には特定の系統の幹細胞源が必要であり, これらの細胞を採取し, 培養する必要がある. 自己骨髄細胞は, 自家移植が可能で大変有用であるが, 採取に際して患者の苦痛や危険をやや伴うという欠点が存在する.

一方, 歯髄細胞は, 脱落乳歯や抜去智歯, 歯科矯正治療における便宜抜去歯などから容易に採取可能であり, かつ多分化能を有する幹細胞が存在する.

歯髄は, 歯の中心部を占める疎性結合組織であり, 基質と細胞から構成されている. 基質中の線維は主に I 型コラーゲン線維と III 型コラーゲン線維であり, 弾性線維はほとんど含まれていない. 細胞成分としては, 神経細胞のほか, 象牙芽細胞, 線維芽細胞, 樹状細胞及び, 免疫系血球細胞を含んでいる. また, 歯髄は感覚受容組織であるだけでなく, 自己修復能力も有しており, 歯の摩耗や齲蝕及び切削治療などによる象牙質への機械的刺激によって形成される修復象牙質として認められ

る。また、歯の再植処置後の歯髄治癒過程において、炎症性細胞の浸潤の他に、象牙質様硬組織や歯髄腔内に島状に形成される骨様硬組織の存在が確認されている。すなわち、歯の自己修復における歯髄細胞の役割は、骨折の治癒過程において骨髄間質細胞が骨形成を担う骨芽細胞に分化することと同様であると考えられている。また、マウス骨芽細胞や骨髄間質細胞のみならず、ヒト歯髄由来の間葉細胞は、マクロファージ系の細胞からの破骨細胞の分化を支持する活性を有していることが報告されている。

過去の報告において、歯髄の間葉には胎生期のみならず、出生後も多数の神経堤由来細胞が存在する。また、歯髄中の中胚葉性間葉細胞は象牙芽細胞、軟骨細胞、骨芽細胞など様々な細胞に分化可能であること、帽状期歯胚の歯乳頭に中胚葉由来細胞が侵入することが報告されている。

以上のように、歯髄に存在する細胞は神経堤由来の外胚葉性間葉細胞と中胚葉由来間葉細胞の2

種類の細胞から分化することが明らかになっている。したがって、歯髄の神経堤由来間葉細胞は、神経細胞や象牙芽細胞への分化能を有する。また、歯髄の中胚葉由来間葉細胞は、骨芽細胞や軟骨細胞及び筋芽細胞への分化能を有する。このように歯髄細胞は多分化能を有するのみならず、脱落乳歯や抜去智歯、歯科矯正治療における便宜抜去歯などから容易に採取可能である為、再生医療において有望な材料である。しかし、歯髄細胞に発現する石灰化に関する遺伝子群および、歯髄細胞の分化、培養条件に関する知見は極めて少ないのが現状である。

そこで、本研究の目的はヒト由来の歯髄細胞の採取培養を行い、ヒト歯髄細胞の特異形質を決定する遺伝子の同定、ヒト歯髄細胞の石灰化能の解析、及びヒト歯髄細胞のマウス筋膜下移植による硬組織再生能の検討を行い、ヒト歯髄細胞を用いて、硬組織再生の応用を目指す基礎的実験結果を蓄積することである。