







学位論文審査の結果及び最終試験の結果の要旨

学位申請者氏名	陳 凱		
学位論文名	Spontaneously formed spheroids from mouse compact bone-derived cells retain highly potent stem cells with enhanced differentiation capability (マウス緻密骨由来細胞から形成された自発的スフェロイドは高い幹細胞性と分化能力を持つ)		
論文審査委員	主査：	松本歯科大学 教授	小林泰浩 
	副査：	松本歯科大学 准教授	正村正仁 
	副査：	松本歯科大学 講師	上原俊介 
	副査：		
	副査：		
	副査：		
最終試験	実施年月日	2019 年 12 月 12 日	
	試験方法	<input type="checkbox"/> 口答 ・ <input checked="" type="checkbox"/> 筆答	
学位論文の要旨			
<p>【目的】 スフェロイド培養は、通常の平面培養と比較して生理学的な環境に近く、幹細胞性の維持に優れているため、ティッシュエンジニアリングや細胞治療に有用であることが報告されている。緻密骨由来細胞 (compact bone-derived cells, CBDCs) は間葉系幹細胞の潤沢な細胞源であるが、CBDCs 由来のスフェロイドの性質についてはよく知られていない。そこで本研究では、マウス CBDCs 由来の自発的スフェロイドを用いて、その性質について検討した。</p> <p>【材料と方法】 マウス (C57BL/6J) の大腿骨および脛骨を摘出後、骨髄をフラッシュアウトして皮質骨を得た。細切後酵素処理を行い、CBDCs を採取した。はじめ通常の培養ディッシュを用いて平面培養を行い、2～3 継代目の細胞を以下の実験に使用した。細胞を特殊な接触角を持つ培養ディッシュへ播種することで、自発的スフェロイドを得た。ES 細胞マーカー (SSEA1, Sox2, Oct4, Nanog) の発現を、免疫蛍光法および定量的 PCR (qRT-PCR) にて検討した。同様に間葉系幹細胞マーカー (CD105, CD44, CD29, Sca-1, KLF4) の発現を qRT-PCR にて解析した。次にスフェロイド由来細胞を通常の培養ディッシュに播種し、骨および神経分化誘導を行った。骨分化マーカー (Osterix, BSP, DMP1) と神経分化マーカー (Nestin, MAP2, NGFR) の発現を解析し、平面培養細胞と比較した。</p> <p>【結果】 CBDCs 由来のスフェロイドは、ES 細胞マーカーである SSEA1, Sox2, Oct4, Nanog 陽性であった。qRT-PCR による解析では、平面培養された細胞と比較して FUT4 (SSEA1), Sox2, Nanog の遺伝子発現が有意に上昇していた。間葉系幹細胞マーカーの発現はスフェロイドと平面培養された細胞でほぼ同等であったが、Sca-1 については有意にスフェロイドで高発現していた。分化誘導後、スフェロイド由来細胞は平面培養された細胞と比較して、高い骨分化マーカーおよび神経分化マーカーの発現を認めた。</p> <p>【結語】 CBDCs 由来の自発的スフェロイドは、平面培養細胞と比較して幹細胞マーカーを高発現し、優れた骨および神経分化能を示した。この結果から、スフェロイド細胞は平面培養細胞と比較して、より高い幹細胞性を持つことが示唆された。</p>			

(様式第 13 号)

学位論文審査結果の要旨	
<p>本研究では、緻密骨由来細胞 (CBDCs) 自発的スフェロイドは、高く幹細胞マーカーの発現と優れた骨・神経分化能を示唆された。この結果から、本論文は、自発的スフェロイドの高い幹細胞性能を明らかにしただけでなく、臨床応用における骨再生治療効果の改善にも期待される優れた論文である。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士 (歯学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。</p>	
最終試験結果の要旨	
<p>学位論文の内容に関する基礎知識および研究成果などについて、以下のような項目を中心に試問を行った。</p> <ul style="list-style-type: none">・皮質骨を細胞源として用いる利点について。・皮質骨由来細胞を用いた研究の発展性について。・本研究で用いられている SSEA1, Oct4, Nanog, Sox2 に共通する機能について。・スフェロイドを平面培養に移行させた際の幹細胞性の変化の可能性について。・神経分化後に神経細胞に分化した細胞の割合について。・本研究の今後の展開について。・皮質骨由来細胞により形成されたスフェロイドと iPS 細胞との違いを検討するために行うべき実験について <p>質問事項に対して文献の知識を踏まえて、適切な回答が得られた。申請者は本研究に用いた実験手法を習得しているとともに、本研究の臨床意義や発展性などについてもよく理解しており、博士課程修了者として十分な専門知識と学力を有していると判断した。</p> <p>本審査委員会は、申請者が博士 (歯学) として十分な学力および知識を有するものと認定し、最終試験を合格と判断した。</p>	
判 定 結 果	<input checked="" type="checkbox"/> 合格 ・ 不合格

備考

- 1 学位論文名が外国語で表示されている場合には、日本語訳を () を付して記入すること。
- 2 学位論文名が日本語で表示されている場合には、英語訳を () を付して記入すること。
- 3 論文審査委員名の前に、所属機関・職名を記入すること。