

令和2年 2月 3日

学位論文審査並びに最終試験結果報告書

大学院歯学研究科長 殿

主査 齊藤 正人

副査 荒川 俊哉

副査 石井 久淑



今般 大西 綾 にかかわる学位論文審査並びに最終試験を行い下記の結果を得たので報告する。

記

1 学位論文題目：

エピジェネティクス試薬を応用したマラッセ上皮細胞による歯髄細胞の歯根膜様細胞への誘導

2 論文要旨 別添

3 学位論文審査の要旨 別添（様式第12号）

4 最終試験の要旨 別添（様式第13号）

以上の結果 大西 綾 は博士（歯学）の学位を授与する資格の^{ある}ないものと判定する。

学位論文審査の要旨

主査 齊藤 正人
副査 荒川 俊哉
副査 石井 久淑



氏 名：大西 綾

学位論文題目：エピジェネティクス試薬を応用したマラッセ上皮細胞による歯髄細胞の歯根膜様細胞への誘導

以下本文（15行目から1000字以内）

現状では、重度歯周炎症例についての有効な治療法は無い。抜去歯に歯根膜(Periodontal ligament cells, PDL)を再生することができれば、再植することで再度使用可能になることも考えられる。歯髄に存在する歯髄幹細胞は、再生医療への応用可能性が示唆されているが、歯髄全体に占める歯髄幹細胞の割合は数%未満であることが想定され、歯髄幹細胞だけを応用するには細胞の量が不十分である。また、PDLに存在して歯髄(Dental pulp cells, DP)に存在しないものはマラッセ上皮細胞(Epithelial cell rests of Malassez; ERM)であることから、DP全体の細胞にERMを追加し、さらにヒト臍帯静脈内皮細胞(Human Umbilical Vein Endothelial Cells, pooled, HUVEC)を用いて脈管構造を増強する方法を組み合わせることで、PDLの代わりとなる上皮間葉細胞集団の作製が可能になるのではないかという仮説を立てた。そこで本研究では、DPとERM, HUVECを組み合わせることで、歯根膜類似の上皮間葉細胞集団への誘導を試みた。

DP・ERM・HUVEC共培養群では、歯根膜関連遺伝子および間葉系幹細胞関連遺伝子のmRNA発現上昇はみられなかった。

この問題を解決するために、エピジェネティクス試薬の5-Aza-2'-deoxycytidine及びvalproic acidを応用しERMを脱分化させることを試みた。その結果、未分化マーカーである*Nanog*, *Oct3/4*, *Sox2*, *Klf4* およびエナメルマーカーの*ameloblastin* mRNA発現およびNANOGとOCT4のタンパク発現を認め、脱分化したERM (Dedifferentiated-ERM, De-ERM) が確認された。

DP・De-ERM・HUVEC共培養群では、歯根膜関連遺伝子の*Ncam1*, *Msx1*, *Postn*, *S100A4*と*Vcam1*および間葉系幹細胞関連遺伝子*Cd44*, *Cd105*と*Cd29*のmRNA発現上昇傾向を認めた。また、*Msx1* のDNAメチル化解析では、DP群に比べPDL群およびDP・De-ERM・HUVEC共培養群でのメチル化レベルの低下傾向を認めた。

以上のことから、DP・De-ERM・HUVEC共培養群は、歯根膜に類似した上皮間葉細胞集団へ誘導される可能性が示唆された。

最終試験（学力の確認）の要旨

主査	齊藤 正人
副査	荒川 俊哉
副査	石井 久淑
副査	



氏 名：大西 綾

以下本文（10行目から200字以内）

本論文は、歯根膜の上皮間葉系細胞の誘導法について、in vitroの系を用いて、分子生物学的並びに組織学的に検討したものです。最終審査において主査および副査から研究方法の詳細や、結果の分析および図の表記に関していくつかの不明確な点が散見されましたが、訂正も期日内に的確に対応されました。本論文は歯根膜の再生における新たなアプローチを予見するものであり、臨床的にも意義が高く、総合的に学位取得に適すると考えます。