

論文審査の結果の要旨

報告番号	<input checked="" type="checkbox"/> 甲 <input type="checkbox"/> 乙 <input type="checkbox"/> 乙口保 <input type="checkbox"/> 口修	第447号	氏名 成谷 美緒
審査委員	主査 湯本 浩通 副査 岩本 勉 副査 馬場 麻人		

題目

Analysis of Bone Marrow-derived Mesenchymal Stem Cell Kinetics after Short-term Stimulation with Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )

(TNF- $\alpha$ 短期刺激による骨髄由来間葉系幹細胞の細胞動態解析)

要旨

高齢患者由来の幹細胞の未分化性は若年者のものと比較して低く、幹細胞特性(未分化能)を再び獲得する培養技術の開発が望まれている。Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )を培養歯髄細胞に短期的に作用させることにより、未分化性が獲得されることが報告されている。本研究では、新規幹細胞培養技術の開発のため、TNF- $\alpha$ 短期刺激によるラット骨髄由来幹細胞(BMSC)の未分化性獲得ならびに細胞動態の解析を目的とした。

5~6週齢のSprague-Dawleyラット長管骨からBMSCを採取し、培養を行った。60% confluent時にRecombinant Rat TNF- $\alpha$  (rTNF- $\alpha$ )を1~100 ng/ml添加し、2日間培養後、継代を行い、rTNF- $\alpha$ を培地中から完全に除去した細胞を刺激群とした。細胞形態観察、増殖能および未分化性マーカーの発現解析、また、骨、軟骨、神経、脂肪への分化誘導を行い、各種マーカー遺伝子の発現解析を行った。骨分化誘導については長期的観察を行い、分化能への影響を検討した。本実験は徳島大学動物実験委員会(承認番号:T27-79号)の承認を得た上で行った。

rTNF- $\alpha$  10 ng/ml 刺激群において、他群と比較して未分化性マーカー発現が有意に増加し、細胞形態や増殖能について差を認めなかった。各種分化誘導を行ったところ、刺激群では骨、軟骨、神経の遺伝子マーカーの発現が有意に抑制されていた。骨分化誘導についての長期観察では、培養21日目までは刺激群では対照群と比較して分化が遅延していたが、28日目の時点では差を認めなかった。骨髄中には幹細胞だけでなく、種々の前駆細胞や分化の進んだ細胞などヘテロな細胞種が混在している。骨髄内から採取・培養した様々な分化過程にある骨髄(前駆)細胞の一部が未分化性を獲得した可能性が示された。

これらの結果より、培養工程中におけるrTNF- $\alpha$ 短期刺激は、BMSCの幹細胞特性の獲得に寄与することが示された。以上より、本研究は歯科医学の発展に寄与するものと期待できる。よって、本論文は博士(歯学)の学位授与に値すると判定した。