

学 位 論 文 審 査 の 要 旨

論文提出者	渡邊 昌弘
論文審査委員	(主 査) 朝日大学歯学部教授 澁谷 俊昭 (副 査) 朝日大学歯学部教授 滝川 俊也 (副 査) 朝日大学歯学部教授 近藤 信夫
論文題目	
5-Ethynyl-2'-deoxyuridine Labeling 法を用いた歯周組織における組織幹細胞の検討	
<p><u>論文審査の要旨</u></p> <p>これまでの研究で、歯周組織には歯髄幹細胞が存在すること、間葉系幹細胞マーカーである STRO-1 や CD146 を発現し、自己再生能と多分化能を有する label retaining cells (LRCs) の存在が知られている。また、5-Bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) を用いた「胎生期ラベリング法」では歯髄幹細胞の局在の経時的な変化が報告されている。しかしながら、5-Ethynyl-2'-deoxyuridine (EdU) を用いた歯周組織幹細胞の局在はよく知られていない。本研究では、核に取り込まれた EdU の蛍光標識を用いて下顎第一臼歯歯根膜における組織幹細胞を免疫蛍光染色にて同定し、局在と経時的な変化を検討したものである。</p> <p>実験には、妊娠 CD1 (ICR) マウスに EdU を投与し、出生 1 か月後 (1M 群) (n=5)、2 か月後 (2M 群) (n=5)、3 か月後 (3M 群) (n=5) のマウスを使用している。屠殺後、作製した切片はアザン染色、Hoechst 33342 を用いた DNA 染色および Click-iT® EdU Imaging Kits を用い、取りこまれた EdU を Alexa 488 により LRCs の確認を行っている。また LRCs が組織幹細胞であるかを STRO-1、CD146 により間接蛍光抗体法を行い、蛍光免疫二重染色を行っている。マウスの下顎第一臼歯の歯根膜の歯槽骨頂部、根尖部、根分岐部における三か所の蛍光発色した細胞数をもとに、それぞれの部位の 1M 群、2M 群、3M 群ごとに割合を算出している。</p> <p>EdU を用い胎生期ラベリング法を行ったところ、マウスの歯周組織において核が濃くラベルされた LRCs を認め、間葉系幹細胞マーカーである STRO-1、又は CD146 を発現していた。今回 1M 群において、LRCs は歯根膜中に数多く存在したが、経時的に減少していた。さらに、生後 3 か月の成熟した歯髄や歯肉においても存在し、歯根膜における血管周囲やセメント質表層にも認められたが、月齢を増すごとにラベルが顆粒状に薄くなった細胞が次第に増加したと述べている。幹細胞は非対称分裂を行う特徴を持つことから、LRCs は非対称分裂して幹細胞としてとどまった歯根膜幹細胞であると考えられ、顆粒状の発光を認める LRCs は、増幅細胞または前駆細胞であると述べている。以上の結果から EdU を用いた胎生期ラベリング法を行ったところ、LRCs から STRO-1 および CD146 を発現したことから歯根膜における組織幹細胞であることを同定し、歯根膜における組織幹細胞の局在を明らかにしている。審査委員は以上の本論文の研究成果を評価し、価値ある所見を提供したものであり、学位授与に値するものと判定した。</p>	