

歯髄 SP 細胞の分離と象牙質再生に対する有用性の検討

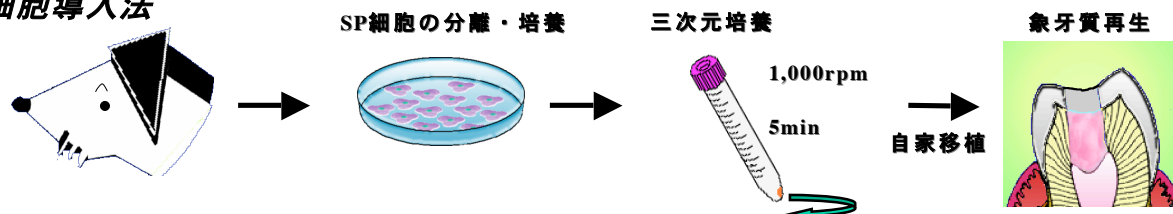
庵原 耕一郎 鄭 力 松下 健二 中島 美砂子

口腔疾患研究部 口腔機能再生研究室

新しい齲蝕治療法として細胞導入法あるいは遺伝子導入法による象牙質歯髄再生を行うためには、歯髄幹細胞の分離・増幅技術の開発が必須である。これまで歯髄組織において幹細胞の存在は示されているが、歯髄幹細胞のマーカ―は明らかではなく、抗体を用いて歯髄幹細胞を完全に分離する方法は確立されていない。一方、各組織においては、side population (SP) 細胞に幹細胞が多く含まれている事が知られている。今回、歯髄より SP 細胞を分取し、幹細胞の特徴である自己複製能、多分化能を検索し、SP 法による歯髄幹細胞分離法の有効性を検討した。また、SP 細胞に BMP2 を添加し三次元培養を行った後イヌ生活歯髄切断面に移植する「細胞導入法」を行い、SP 細胞の象牙質再生に対する有用性を検討した。

ブタの SP 細胞は non SP および primary 細胞に比べ高い増幅能・自己複製能を有していた。SP 細胞は組織幹細胞のマーカ―である *Bmi1*、*Stat3*、*Tert* および間葉系幹細胞の細胞表面マーカ―の *CD105*、*CD150* mRNA の高い発現が見られた。これより SP 細胞には幹細胞が多く含まれている事が示された。また、SP 細胞の責任遺伝子である *Bcrp1* の発現の局在性は血管内皮細胞のマーカ―*VEGFR2* および周皮細胞のマーカ―*NG2*、*desmin* の局在性とほぼ一致し、SP 細胞は血管周囲に多く存在する事が示唆された。また SP 細胞は脂肪、軟骨および神経細胞に誘導でき、rhBMP2 を添加して三次元培養を行うと象牙芽細胞に分化することから SP 細胞は多能性を有する事が示された。さらに rhBMP2 を添加した SP 細胞を生活歯髄切断面に移植すると欠損部位に象牙質の形成がみられた。これらの結果より SP 法は歯髄組織から幹細胞を分離するのに有効な手段であり、BMP2 を添加した SP 細胞を用いた細胞導入法は象牙質再生に有用であると考えられる。今後、臨床応用するため、より大量に象牙質を形成させるべく最適な scaffold を検討する予定である。

細胞導入法



参考文献 Iohara K., Nakashima M., Ito M., Ishikawa M., Nakashima A., and Akamine A. Dentin Regeneration by Dental pulp stem cell therapy with recombinant human bone morphogenetic protein (BMP) 2. J. Dent. Res.83 (8), 590-595,2004