

氏名(生年月日)	望 <sup>もち</sup> 月 <sup>づき</sup> 真 <sup>ま</sup> 衣 <sup>い</sup> (昭和56年12月20日)
本籍	静岡県
学位の種類	博士(歯学)
学位記番号	甲第1167号
学位授与の日付	平成30年2月6日
学位授与の要件	
学位論文題目	血清非存在下におけるヒト歯髄細胞の分離と幹細胞特性評価 ～臨床的細胞治療に向けた実践的無血清培養法の確立～
論文審査委員	主査 今井 一志 副査 五十嵐 勝 添野 雄一

#### 論文内容の要旨

安全な再生医療における細胞培養では、ウシ胎仔血清（FBS）が非添加の培養液やジメチルスルホキシド（DMSO）を含まない細胞凍結保存液の使用が望ましい。本研究は、FBS非添加培養液 PRIME-XV<sup>®</sup> MSC Expansion XSFM を用いて、FBS非存在下におけるヒト歯髄幹細胞（XFM細胞）の分離と特性評価ならびに最適な無血清培養法を検討し、FBS含有培養における歯髄幹細胞（SCM細胞）との比較解析の結果、以下の結論を得た。

- 1) FBS非存在下で、ヒト歯髄細胞から歯髄細胞の分離に成功した。
- 2) XFM細胞は、SCM細胞よりも高い増殖能を有し、長期培養後も染色体安定性を維持した。
- 3) XFM細胞は、SCM細胞と同様に *in vitro* では間葉系幹細胞の特性を示し、*in vitro* では骨様象牙質を形成して、腫瘍形成を認めなかった。
- 4) XFM細胞は、外来性の細胞傷害刺激に対して感受性が高く、SCM細胞よりも有意に細胞傷害率が高かった。
- 5) オーバーコンフルエントにおいてSCM細胞は単層を維持する一方、XFM細胞は多層化してアポトーシスを生じ、継代後も凝集塊を形成して細胞増殖を認めなかった。
- 6) DMSO非含有細胞凍結保存液で凍結保存したXFM細胞は、2)～5)と同様の結果を示した。

#### 論文審査の要旨

本研究は、血清非存在下におけるヒト歯髄幹細胞の特性評価と実践的培養法について詳細に検討している。その結果、無血清培養は、高い増殖能を維持して長期培養による細胞数の獲得を可能とするが、得られた歯髄幹細胞は種々の細胞傷害刺激に脆弱であり、多層化を呈する過度な培養によって細胞増殖の破綻をきたし、アポトーシスに至ることが明らかとなった。

以上は、再生医療におけるヒト歯髄幹細胞の安全な無血清培養法の確立に有用であり、歯学に寄与するところが大きく、博士（歯学）の学位に値するものと審査する。