

博士論文審査結果の要旨

学位申請者 足立圭司

主論文 1編

Human periodontal ligament cell sheets cultured on amniotic membrane substrate.
Oral Diseases. 20 ; 582-590, 2014.

審査結果の要旨

近年、歯周組織の再生には新生歯根膜の存在の重要性が示されており、歯根膜由来の線維芽細胞を増殖させ、自家移植することで歯周組織を再生する試みが行われている。これらの報告では、細胞移植に際して適切な基質の存在が重要であると示されているが、理想的な基質は明らかでない。羊膜は、各種細胞の培養基質に適し、抗炎症作用、感染抑制作用などを有しているとされ、これまでも様々な手術療法に用いられ、高い有用性および有効性が報告されている。

申請者は、この羊膜の特性に着目し、歯周組織再生のための新たな医療材料として、羊膜を基質に用いた歯根膜由来細胞の培養細胞シートを開発した。羊膜は帝王切開時に胎盤より採取したものを使用し、歯根膜由来細胞は抜去したヒトの智歯の歯根膜組織より得た。得られた歯根膜由来細胞は羊膜上に約2～3週間細胞培養を行い、羊膜上培養歯根膜由来細胞シートを作製した。作製した培養細胞シートに対して、免疫組織化学的および電子顕微鏡による観察を行い、羊膜上の培養歯根膜由来細胞が機能的な特性を有しているか、また羊膜が歯根膜由来細胞の培養基質として適しているかについて検討を行った。

免疫組織化学的な観察では、培養細胞シートの細胞質において、Ki-67陽性反応の局在とvimentinの発現を認めた。培養細胞間においては、desmoplakin, ZO-1の発現を認め、培養細胞の基底部分（細胞-羊膜境）においては、laminin 5/alpha 5 chain, collagenIV/VIIの発現を認めた。電子顕微鏡による羊膜上培養歯根膜由来細胞シートの観察では、培養2週間後で細胞増殖し、培養3週間後では約3～5層の重層化を認めた。下層（基底層）の歯根膜由来細胞は羊膜組織中に進入し結合し、増殖した歯根膜由来細胞同士は隣接する細胞間で接着し、デスモゾーム様の結合が観察された。

本研究の結果、歯根膜組織より分離培養した歯根膜由来細胞は、羊膜上に増殖し、強固な細胞間接着装置および基底膜を有した1枚の培養細胞シートを形成することが確認された。結論として、羊膜は歯根膜由来細胞の培養基質として適切であることがわかり、この羊膜上培養歯根膜由来細胞シートが、新たな歯周組織の再生医療材料となりうる可能性が示唆された。

以上が本論文の要旨であるが、羊膜を基質とした歯根膜由来細胞の細胞培養は今までに無かった試みであり、羊膜が歯根膜由来細胞の培養基質として有用かつ有効であるとの知見を得た点で、医学上価値を有すると考えられる。

平成27年6月18日

審査委員 教授 松田 修 ㊞

審査委員 教授 田口 哲也 ㊞

審査委員 教授 田尻 達郎 ㊞