

論文内容要旨

氏名 成瀬 正啓

小児歯科領域においては、脱落乳歯内に存在する歯髄幹細胞が注目されており、再生医療への応用が期待されている。この歯髄幹細胞に代表される間葉系幹細胞は、iPS細胞やES細胞と比較して、腫瘍形成が無いことから、安全な幹細胞として注目されており、これら間葉系幹細胞から様々な組織への分化誘導法の開発は、再生医療の実現のために必要な技術である。Hedgehog(Hh)ファミリーは、骨格形成に重要な働きを演じていると考えられており、本研究ではHhシグナルを活性化する小分子化合物Hh-Ag 1.3およびHh-Ag 1.7の、マウス間葉系幹細胞株C3H10T1/2細胞に対する生物活性を検討した。C3H10T1/2細胞に両小分子化合物を添加するとHhシグナルの標的遺伝子であるGli1遺伝子の発現増強が認められ、両小分子化合物はC3H10T1/2細胞においてHhシグナルの作動薬として働くことが示された。また両小分子化合物は、C3H10T1/2細胞のアルカリフォスファターゼ活性を上昇させ、さらに骨芽細胞分化マーカー遺伝子の発現を促進した。C3H10T1/2細胞はBMP-2により骨芽細胞へと分化するが、骨芽細胞誘導が認められない低濃度のBMP-2(20ng/ml)とHh-Ag 1.3またはHh-Ag 1.7を共に培地に添加、培養すると、両小分子化合物は低濃度のBMP-2の作用を増強させ、骨芽細胞へと分化誘導させた。C3H10T1/2細胞にBMP-2とHh-Ag 1.3またはHh-Ag 1.7を添加し、石灰化誘導培地にて培養すると、BMP-2での刺激では全く誘導されなかった石灰化がBMP-2と両小分子化合物添加群では石灰化が誘導され、Hh-Ag 1.7はより強い骨芽細胞の成熟・石灰化に関わる事が示された。そこでHh-Ag 1.7による骨芽細胞分化誘導能について検討した結果、Hh-Ag 1.7はHh-Ag 1.3と異なり骨芽細胞分化マーカー遺伝子のうち、Runx2の下流に位置するosterix/Sp7の遺伝子発現を特異的に亢進させ、間葉系幹細胞を骨芽細胞へと分化誘導すること示した。さらにHh-Ag 1.7はRunx2欠損マウスより樹立されたRD-127細胞においても骨芽細胞分化を誘導した。本研究で特定した両小分子化合物は、間葉系幹細胞から骨芽細胞分化を誘導し、その作用はBMP-2の存在下で相乗的に増強された。今後、骨芽細胞と類似の分化過程を有する象牙芽細胞についてもこれらの小分子化合物の影響を検討することで、骨のみならず象牙質再生をめざした新たな治療法の開発に貢献できるものと期待される。