

# 川崎貴子論文内容の要旨

## 主 論 文

Transient Exposure to Hypoxic and Anoxic Oxygen Concentrations Promotes  
either Osteogenic or Ligamentogenic Characteristics  
of PDL-Cells

短期低酸素刺激／再酸素化による培養歯根膜由来細胞の  
骨および腱再生能の促進

著者名；川崎 貴子、住田 吉慶、江頭 寿洋、大場 誠悟、  
各務 秀明、Simon D Tranm、朝比奈 泉  
BioResearch Open Access in press

長崎大学大学院医歯薬総合研究科医療科学専攻  
(主任指導教員：朝比奈 泉 教授)

## 緒 言

歯根膜由来細胞 (PDLC) は、骨・セメント質および靭帯・腱分化に関連する特性を持ち、これらの組織再生における有用性が多数報告されている。しかしながら、PDLC の可塑性については、骨髄や歯髄といった他の組織由来の間葉系幹細胞 (MSC) と比較して骨形成能は高いとは言えず、さらに細胞数を確保するために継代を重ねると可塑性が大きく低下するという問題点が指摘されている。PDLCs は骨や腱・靭帯の両方に分化する特性があること、培養された PDLCs は様々な分化段階・分化方向にある細胞集団であることなどがあるが骨形成能に関与していると考えられる。一方、培養における低酸素刺激は、間葉系幹細胞 (MSC) の増殖や可塑性を促進させることが知られている。そこで、本研究では培養後期における短時間の酸素濃度変化が、継代を重ねた PDLC の可塑性に与える影響について評価を行なった。

## 対象と方法

6 継代目ヒト PDLC を 80~90%コンフルエントに達するまで培養した後、低酸素 ( $O_2 < 5\%$ ; hypoxia 群) および重度低酸素 ( $O_2 < 0.1\%$ ; anoxia 群) 環境下で 24 時間培養をおこなった。その後、生存した細胞の特性解析を行なうと共に、再酸素化後の PDLC の可塑性について *in vitro* または *in vivo* にて評価を行なった。

## 結 果

低酸素刺激開始後 6 時間で未分化性の維持に関わる遺伝子 (*oct4*, *sox2*, *p75ntr*) の発現上昇を認め、24 時間後には MSC マーカー (CD105、CD166、STRO-1) 陽性細胞の増加を認めた。このうち、MSC マーカー陽性細胞率は、hypoxia 群で有意に高値を示した。一方で、anoxia 群では未分化性の維持マーカーの発現は減少していたものの、腱分化の転写因子である *scleraxis* の発現は著名に上昇していた。続いて、再酸素化後の PDLC に骨分化誘導を行なったところ、*in vivo* においても高い骨形成能を示した。これは、hypoxia 群において特に著名であった。又、同様に再酸素化後の PDLC を腱分化誘導培地にて継続培養を行なうと、anoxia 群での *scleraxis* の発現がさらに上昇していた。一方、軟骨細胞や脂肪細胞への分化誘導においては、酸素濃度による明瞭な違いを認めなかった。

## 考 察

培養中に短時間でも酸素濃度変化を加えることで、継代を重ねた PDLC の可塑性を向上させ得ることが示された。これは、PDLC による骨や腱組織の再生に特に有用であると考えられた。