

論文要旨

氏名	森谷 友貴
タイトル (日英併記)	Spheroid culture enhances osteogenic potential of periodontal ligament mesenchymal stem cells スフェロイド培養は歯根膜由来間葉系幹細胞の骨分化能を高める
論文の要旨 (日本語で記載)	
【目的】 ヒト歯根膜細胞由来間葉系幹細胞 (hPDLMSC) は歯周組織の恒常性の維持や再生に関与することが知られている。本研究において、単層培養した hPDLMSC と hPDLMSC スフェロイドの <i>in vitro</i> および <i>in vivo</i> における骨分化能を比較し、hPDLMSC の骨再生促進におけるスフェロイド培養の影響を検討した。	
【方法】 基板表面をポリエチレングリコールで修飾し、細胞非接着性としたマイクロウェルチップを用いてスフェロイドを形成した。hPDLMSC スフェロイドにおける間葉系幹細胞 (MSC) マーカー発現をフローサイトメトリーにより解析した。定量的リアルタイム PCR 解析により、単層培養した hPDLMSC と hPDLMSC スフェロイドにおける幹細胞性マーカーと骨関連遺伝子の発現を調べた。hPDLMSC スフェロイドの骨分化能を検討するために、石灰化結節の解析、アルカリホスファターゼ (ALP) 活性測定、マウス頭蓋骨欠損モデルへの移植を行った。hPDLMSC スフェロイドの骨分化促進のメカニズムを調べるために、分泌型フリズルド関連タンパク質 3 (SFRP3) の siRNA を用いたノックダウン実験を行い、ALP 遺伝子発現と ALP 活性を測定した。単層培養した hPDLMSC と hPDLMSC スフェロイドにおける骨分化誘導培地 (OIM) 下の SFRP3 発現をリアルタイム PCR とウェスタンブロッティングにより測定した。	
【結果】 hPDLMSC スフェロイドは単層培養した hPDLMSC と同様の MSC マーカーを発現した。興味深いことに、“幹細胞性”を調節する転写因子の発現は、単層培養した hPDLMSC と比べて hPDLMSC スフェロイドで有意に上昇した。OIM 下における hPDLMSC の石灰化結節形成量、ALP 活性、骨関連遺伝子発現は、単層培養した hPDLMSC と比べて hPDLMSC スフェロイドで有意に増加した。同様に、頭蓋骨欠損モデルマウスへの hPDLMSC スフェロイド移植は、単層培養した hPDLMSC 移植と比べて有意に新生骨の形成を促進した。最後に、OIM 下でスフェロイド培養した hPDLMSC の ALP 活性への影響のメカニズムを調べるために、Wnt シグナルのアンタゴニストである SFRP3 の siRNA を用いたノックダウン実験を行った。SFRP3 のノックダウンにより、スフェロイド培養した hPDLMSC における OIM が誘発する ALP 遺伝子発現と ALP 活性は有意に減少した。これらのデータから、hPDLMSC スフェロイドにおける骨分化能の増強は SFRP3 による ALP 活性の上昇を介することが示唆された。	
【結論】 スフェロイド培養は単層培養と比較して、hPDLMSC の肝細胞性を上昇させ、OIM 下で SFRP3、ALP 活性を介して骨分化能並びに骨形成を亢進することが明らかとなった。これらのデータより、スフェロイド培養は骨疾患に対する細胞治療や再生医療における新規の有効なツールと成り得ることが示唆された。	