

## 学位審査結果報告書

学位申請者氏名: 菅 毅典

学位論文題目: Characterization and Study of Gene Expression Profiles of Human Periodontal Mesenchymal Stem Cells in Spheroid Cultures by Transcriptome Analysis

審査委員 (主査) 古 株 彰一郎



(副査) 正 木 千 尋



(副査) 竹 内 弘



### 学位審査結果の要旨

再生医療においてスフェロイドの有用性を示す報告が多数あるが、その分子メカニズムには不明点が多い。そこで申請者らは RNA-seq 解析によりヒト歯根膜間葉系幹細胞 (hPDLMSC) スフェロイドに特異的に発現する遺伝子を同定とその機能解明を試みた。

hPDLMSC をマイクロウェルチップ内で3日間培養し、スフェロイドを調製した。また、対照群として3日間単層培養した hPDLMSC を調製し、両群から RNA を回収した。Illumina HiSeq システムを使用して RNA-seq を実施した。hg38 および Refseq のデータは UCSC Genome Browser から得た。GO term エンリッチメント解析を Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery によって行った。得られた結果より、転写因子の NR4A2 に着目し、リアルタイム PCR 法とウエスタンブロッティング法で定量した。また、NR4A2 の siRNA を導入した後、アリザリンレッド染色による石灰化および ALP 活性を評価した。

トランスクリプトーム解析の結果、単層培養と比較してスフェロイド培養では細胞増殖の負の調節、ヒストン脱アセチル化、BMP シグナリングに関わる遺伝子が強く発現していた。その中で転写因子である NR4A2 に着目した。hPDLMSC スフェロイドにおいて NR4A2 をノックダウンすると骨形成遺伝子発現と ALP 活性が上昇し、石灰化結節の形成が促進された。

以上より、NR4A2 は hPDLMSC スフェロイドにおいて骨分化を負に制御することが示唆された。

本研究内容について申請者の菅氏に対し、主査と2名の副査による試問を行い、実験手法や結果の解釈および当該分野における意義と臨床応用への展望や今後の課題等についておむね適切な回答を得た。本研究は hPDLMSC スフェロイドにおいて骨分化を負に制御する新たな因子を見出したものであり、審査委員会では本論文を学位論文として価値あるものと判断した。