

Title	Analysis of bone marrow stem and SP cells derived from the femur, humerus and ilium of aged and young rats
Author(s)	添島, 義樹
Journal	歯科学報, 115(2): 152-153
URL	http://hdl.handle.net/10130/3583
Right	

氏名(本籍)	添 島 義 樹 (熊本県)
学位の種類	博士(歯学)
学位記番号	第 2066 号(乙第 778 号)
学位授与の日付	平成26年6月18日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	Analysis of bone marrow stem and SP cells derived from the femur, humerus and ilium of aged and young rats
掲載雑誌名	J. Jpn. Soc. Evidence and Dental Professional 第6巻 1号 58-65頁 2014年
論文審査委員	(主査) 井上 孝教授 (副査) 新谷 誠康教授 東 敏彦教授 阿部 伸一教授 松坂 賢一准教授

論文内容の要旨

1. 研究目的

造血幹細胞および間葉系幹細胞は、骨髄中に存在し、自己複製能及び血球や間葉組織への分化能力と、未分化性維持能力を併せ持つ。本実験では、異なる2つの長管骨(大腿骨、上腕骨)と扁平骨(腸骨)に由来する骨髄幹細胞について比較し、加齢変化を検索した。

2. 研究方法

若齢(4 weeks, 120~150g)と老齢(60weeks, 800g)ラット各10匹より、大腿骨・上腕骨・腸骨を摘出し免疫組織化学的染色(PCNA, Bmi-1, CD34, Stro-1), RT-PCR(cbfa-1, Bmi-1, p16), FACS解析(Hochest 33342低染色 SP 細胞)を行った。

3. 研究成績および結論

若齢ラットと老齢ラットで、如何なる骨においても形態学的に大きな差は見られなかった。PCNAを一次抗体に用いた免疫組織化学染色では、大腿骨と上腕骨では骨内膜付近を中心に陽性細胞が見られ、膜性骨化が観察できた。また、腸骨では骨髄全体に渡り陽性細胞が見られた。CD34とStro-1陽性細胞は老齢群、若齢群、いずれの骨においても同程度の陽性率が見られた。Bmi-1陽性細胞は若齢ラットで多い傾向が見られた。また、cbfa-1 mRNAの発現は、若齢ラットが老齢ラットに比べ高い傾向にあったが有意差は見られなかった。Bmi-1 mRNAの発現率は、いずれの骨においても若齢ラットにおいて老齢ラットよりも有意に高く、反対にp16 mRNAの発現は、いずれの骨においても老齢ラットにおいて若齢ラットよりも有意に高い発現であった。FACS解析では、SP細胞は、いずれの骨においても老齢ラットが若齢ラットよりも高い傾向を示し、特に腸骨で多い傾向が見られた。

Bmi-1の免疫染色より若齢群において造血幹細胞が多かったが、CD34とStro-1の染色からは加齢に伴い幹細胞割合が増加する様子が観察され、幹細胞の質的な機能低下が細胞の数的増加により補われていることが示唆された。Cbfa-1 mRNAの発現変化より、若齢群で幹細胞の骨芽細胞への分化誘導が活発に行われていると考えられた。p16 mRNAとBmi-1 mRNAの発現は相反しており、Bmi-1は加齢因子を抑制することで細胞老化を抑制あるいは遅延させ、幹細胞数の維持機構に関わることが示唆された。SP細胞は加齢に伴う増加が見られ、上記結果と同様に質的低下を量で補っていることが示唆された。今回の結果より、加齢変化の検索

を行い老齢ラットにも未分化細胞の存在が確認でき、特に腸骨を用いた年齢素因を超えた再生医療分野に再生医療の可能性につながると思われる。

論文審査の要旨

平成26年5月27日、一次審査が行われた。まず、添島専攻生より論文の要旨が説明され、その後審査員から質疑および口頭試問があった。1：骨髄幹細胞の年齢に関係した変化とは具体的にどのようなことか、2：若齢ラットと老齢ラットの幹細胞の量と質の関係、3：SP細胞と幹細胞の関係について、などについて質疑がなされた。これらの質問について、1：通常成長後は長管骨では造血は起こらず脂肪髄になるが、扁平骨では生涯を通じて造血が行われる。この前提から加齢に伴い幹細胞がどのように変化するかを検討したのだが、ラットでは加齢変化においても造血が止まることなく、赤色骨髄であった。2：さらに老齢ラット骨髄中の幹細胞の数は増えていたものの、幹細胞の機能は若齢ラットに比べると劣り、老齢個体では、数で機能を代償していると考えた。3：SP細胞は幹細胞の中でも静止期にあるもので、細胞周期ではG0-G1に相当すると考えられる。と概ね妥当な解答が得られた。その他、英文表記について、用語の統一について、結果と付図説明の加筆、付図の削減や修正、考察の脈絡などについて指摘を頂き、修正・加筆訂正した。

その結果本論文は、今後の歯学の進歩に重要な基礎データとなり学位授与に値すると判定された。また、英語およびドイツ語に関して十分な知識があると判定した。