

# Three-dimensional bone formation including vascular networks derived from dental pulp stem cells *in vitro*

渡邊 美穂

## 論文内容の要旨

3次元培養法を用いてヒト歯髄より分離した細胞から *in vitro* で微細血管網を含む骨組織を作製する方法について検討し、以下の結果を得た。

1. ヒト歯髄より分離した歯髄幹細胞、血管内皮細胞はフローサイトメトリーおよび免疫染色で同定された。さらにヒト歯髄幹細胞に骨分化誘導をかけ、骨芽細胞を獲得し、電子顕微鏡、免疫染色、Alizarin red 染色で同定された。
2. 30日間還流培養し作製した骨組織を micro-CT で観察すると、細胞シート法を応用した層では緻密骨様構造が、細胞ビーズ法を応用した層では海綿骨様構造がそれぞれ観察された。HE 染色では、内部に骨細胞を含む骨小腔や、大小様々な血管様構造、同心円状のハバース層板、ハバース管様構造が観察された。
3. 免疫染色では、緻密骨層と海綿骨層で、それぞれ骨基質蛋白（オステオポンチン、オステオカルシン）に陽性反応を示し、血管様構造も内皮細胞マーカーである von Willebrand 因子に陽性反応を示した。さらに管腔構造に沿って存在する多核の破骨細胞様細胞が観察され、この細胞は TRAP 染色で陽性反応を示した。

以上の結果から、*in vitro* で作製した骨組織は生体内の骨組織と近似した構造を持ち、ヒト歯髄が骨組織作製のための細胞源として有用であることが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は、ヒト歯髄より分離した細胞と3次元培養を組み合わせることで、*in vitro* でも生体内の骨組織と近似した骨組織が作製可能であることを示した。骨再生療法において、抜去歯から採取した自己細胞は安全で応用しやすい細胞源になると考えられ、歯学に寄与する点が多く、博士(歯学)の学位に値するものと審査する。

主査	佐藤 聡
副査	石山巳喜夫
副査	大越 章吾

## 最終試験の結果の要旨

渡邊美穂に対する最終試験は、主査 佐藤 聡教授、副査 石山巳喜夫教授、副査 大越 章吾教授によって、主論文に関する事項を中心として口頭試問が行われ、優秀な成績をもって合格した。