

## Differentiation of dental pulp-derived MSCs into hepatocyte-like cells and their therapeutic use for chemical liver injuries of rats

原 基

### 論文内容の要旨

歯髄に含まれる間葉系幹細胞 (Mesenchymal Stem Cell, MSC) は多分化能を有し、がん化のリスクの少ない再生医療の細胞資源として注目されている。本研究は、歯髄由来の MSC を、肝細胞形質を有する細胞 (Hepatocyte like cells, HLCs) に分化誘導し、この細胞を重症肝炎モデルラットに投与して細胞治療の効果を検証したものである。本実験では、ヒト智歯から採取した歯髄より HLCs を二段階で分化誘導し、これらの細胞における肝細胞特異的機能因子 (尿素、フィブリノーゲン、アルブミン、AST およびヘパプラスチン)、RT-PCR による mRNA の発現 (CPS1, ARG1, GS, Fbg および HNF4 $\alpha$ ) を検討した。さらに、4 週齢の SD ラットに Concanavalin A と D-galactosamine を投与して作製した重症肝炎モデルラットに、HLCs と DMEM/F12 (対照群) を尾静脈より投与し、24, 48, 72 時間後に採血し、肝機能 (AST, ALT, LDH および T. Bil) と、その間の生存率を比較検討した。得られた結果は以下の通りである。

1. ヒト歯髄から Friedenstein 法によって細胞を分離し、Two-Step 法で MSC を多角形の HLCs に分化した。この細胞は肝細胞の電子顕微鏡学的微細構造を示し、グリコーゲン産生能を有していた。
2. HLCs の培養上清には、アルブミンやフィブリノーゲンの産生、およびアンモニアの尿素への転換能など肝細胞特異的機能の存在が確認された。
3. RT-PCR によって、HLCs における CPS1, ARG1, GS, Fbg および HNF4 $\alpha$  の mRNA の発現が確認された。
4. HLCs を投与した重症肝炎モデルラットの生存率の検討では、HLCs 投与群と対照群に差は認められなかった。AST, ALT, LDH は、投与開始後 24 時間から 48 時間において、HLCs 投与群で有意に改善した。

以上より、ヒト歯髄から分化誘導した HLCs は、肝特異的形質を有し、重症肝炎モデルラットの肝障害を改善することが示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

本研究は、歯髄由来 MSC の肝細胞機能を有する細胞への分化と、得られた細胞を重症肝炎モデルラットに投与して肝障害改善効果を検証したものである。その結果、分化した HLCs は肝特異的形質を有する細胞であり、肝障害改善効果を示すことが判明し、重症肝炎に対する治療応用への可能性が示唆された。以上は、歯学に寄与するところが大きく、博士 (歯学) の学位に値するものと審査する。

主査 田中 彰  
副査 葛城 啓彰  
副査 佐藤 聡

### 最終試験の結果の要旨

原基に対する最終試験は、主査 田中 彰教授、副査 葛城 啓彰教授、副査 佐藤 聡教授によって、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。