

論文審査の要旨及び担当者

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	池 浦 一 裕
論文審査担当者	主 査	歯科・口腔外科学	中 川 種 昭	
	薬理学	安 井 正 人	整形外科	中 村 雅 也
	耳鼻咽喉科学	小 川 郁		
学力確認担当者：			審査委員長：安井 正人	
			試問日：平成28年 2月15日	
(論 文 審 査 の 要 旨)				
論文題名：Characterization of Long-Term Cultured Murine Submandibular Gland Epithelial Cells (マウス顎下腺由来上皮細胞長期培養株の特性解析)				
<p>唾液腺再生を試みる研究ではヒト・ラットから樹立された唾液腺細胞株を用いるが、マウスにおける自然発生的な細胞株の報告はない。そこで本研究では野生型マウス顎下腺より単離した初代細胞の長期培養条件を検討し、低カルシウム、無血清、コレラトキシン含有培地の適性を示すとともに導管上皮基底細胞と同様の表現型を有する細胞株を樹立し、増殖性細胞の特性解析を行った。</p> <p>審査では長期培養過程で細胞に起こりうる変異について問われた。12継代目付近でヘイフリック限界に達し、浮遊培養でコロニー形成を認めないことから腫瘍化を否定したが、核型解析や生体内での増殖性細胞動態を観察する必要があると回答された。限界希釈法を用いた単細胞培養において増殖能が高い細胞と低い細胞についての比較検討、さらに有用な細胞源を得るためには培養初期段階で幹細胞に近い細胞を選別する方が良いのではないかと問われた。唾液腺における幹細胞マーカーは未だ同定されていないが、文献上では導管周囲に存在する未分化な細胞はCD117、CD24、CD29、CD49f、Sca-1、Musashi-1、CD44などの細胞表面抗原を発現し、球状の細胞塊であるsalisphere形成が報告されている。本研究では単細胞培養で増殖能が高い細胞群の選別に重きを置いたため、増殖能が低い細胞群については詳細な検討は行っていない。しかしながら増殖能が高い細胞群はコラーゲンゲル内ではsalisphereを形成することが確認できたことから今後既存の幹細胞マーカーの発現についても追加検討すると回答された。なお導管周囲に幹細胞、前駆細胞が存在するとの報告がある根拠については上記幹細胞マーカーを発現した細胞は自己複製能と多分化能を認め、放射線照射により萎縮した唾液腺にsalisphereを注入することで腺機能を回復したことが根拠と回答された。筋上皮細胞への分化誘導ができなかった経緯について問われた。カルシウム濃度と血清刺激による分化促進、TGF-β1による上皮間葉転換に加え筋上皮細胞に適した培地検討が必要と考えられ、アスコルビン酸やインスリンによる刺激も検討する旨を回答された。導管細胞と腺房細胞は発生過程で起源について、また生体から各々を培養する方法について問われた。導管では上皮幹細胞、腺房では間葉幹細胞の関与が考えられる。いずれの組織も個々に培養することは可能だが、同一条件では難しく培養可能な期間は短いと回答された。コレラトキシンの作用機序と負の影響について問われた。アデニル酸シクラーゼが恒常的に活性化することで細胞内cAMP濃度が上昇し細胞周期を進める作用があるが、細胞毒性は検討する必要があると回答された。機能解析の展望について問われた。ジクアホソルナトリウム点眼を唾液腺に応用するためにラットなどの生体内での唾液分泌機能を予備検討する方針であると回答された。</p> <p>以上、検討すべき課題は残しているが、唾液腺組織再構築に向けた有用な細胞源となる可能性を示した点で有意義な研究であると評価された。</p>				