

**Detection and quantification of human specific mRNA
from hepatocyte-like cells derived from dental-pulp in rat RNA by real-time PCR**

島村 直宏

論文内容の要旨

ヒト歯髄由来の間葉系幹細胞から分化させた、肝細胞形質を有する細胞 (Hepatocyte-like cells: HLCs) は、肝障害ラットの肝機能を改善する可能性が指摘されているが、機序は依然不明である。本研究では、免疫不全ラットへ投与された HLCs を特異的に検出する方法として、ヒト GAPDH を検出するプライマーを使用し、逆転写・リアルタイム PCR を施行した。免疫不全ラットへ 5×10^5 の HLCs を門脈内あるいは、尾静脈に投与した場合の、肝および肺における細胞動態を定量的に解析した。更に肝障害ラットへ HLCs を尾静脈投与した場合の細胞動態を解析し、対照群と比較した。結果を以下に示す。

1. 上記プライマーを使用した逆転写・リアルタイム PCR では、ラット RNA 100ng 中で最低ヒト RNA 0.1pg ($1:10^6$) を、特異的に検出することが可能であった。
2. 門脈内投与した場合、肝における HLCs は、投与 3 時間後において、投与直後の約 2% の量に減少していた。
3. 尾静脈投与した場合、多くの HLCs は肺から検出された。その量は投与 6 時間後において約 10% に減少していた。
4. 肝障害群と対照群の比較では、投与 24 時間後において、両群共に肝からの HLCs の検出はなかったが、肺から肝障害群で 4/6 個体において検出され、対照群では検出がされなかった。

以上から、我々が行った逆転写・リアルタイム PCR の検出系は、ラット体内における HLCs を特異的に検出し、HLCs による肝障害病態改善の機序解明に有用であると考えられた。

論文審査の結果の要旨

本研究は、ヒト歯髄幹細胞から分化させた肝細胞形質を有する細胞を、肝障害ラットへ投与した際の細胞動態を、ヒト特異的 mRNA を検出するプライマーを用いて定量し、動的に検証したものである。その結果、ラット肝細胞約 100 万個あたり、ヒト肝細胞 1 個を検出する検出感度を達成した。更に、この検証により肝障害時における細胞動態を解析し、肝障害時には肺に存在する細胞が病態改善に関与する可能性を示した。同時に、重症肝炎に対する歯髄由来幹細胞の治療応用への可能性も示した。以上は、歯学に寄与するところが多く、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 岡田 康男

最終試験の結果の要旨

島村 直宏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 岡田 康男教授によって、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。