

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2004-201612

(P2004-201612A)

(43) 公開日 平成16年7月22日(2004.7.22)

(51) Int.Cl.⁷

C 1 2 N 5/06

A 6 1 C 13/08

A 6 1 L 27/00

// C 1 2 N 15/09

F I

C 1 2 N 5/00

A 6 1 C 13/08

A 6 1 L 27/00

C 1 2 N 15/00

Z N A E

Z

G

A

テーマコード (参考)

4 B O 2 4

4 B O 6 5

4 C O 8 1

審査請求 未請求 請求項の数 6 O L (全 12 頁)

(21) 出願番号 特願2002-376313 (P2002-376313)

(22) 出願日 平成14年12月26日 (2002.12.26)

(71) 出願人 598167040

上田 実

愛知県名古屋市東区白壁4丁目9番地

(74) 代理人 100057874

弁理士 曾我 道照

(74) 代理人 100110423

弁理士 曾我 道治

(74) 代理人 100084010

弁理士 古川 秀利

(74) 代理人 100094695

弁理士 鈴木 憲七

(74) 代理人 100111648

弁理士 梶並 順

(74) 代理人 100118072

弁理士 醍醐 美知子

最終頁に続く

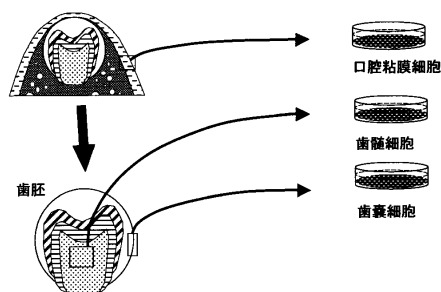
(54) 【発明の名称】 未分化多能性細胞並びに、それを用いた関連組織又は歯作製方法

(57) 【要約】

【課題】非侵襲的に且つ容易に入手することができる未分化多能性細胞と、これを用いた利用価値の高い移植物とを提供する。

【解決手段】歯髄細胞又は歯嚢細胞から未分化多能性細胞を得る。この未分化多能性細胞と、骨芽細胞誘導因子と、 β -TCPとを混合して、関連組織又は歯を作製する。

【選択図】 図1



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

歯関連細胞由来の未分化多能性細胞。

【請求項 2】

前記歯関連細胞が歯嚢細胞及び歯髄細胞の少なくとも一方であることを特徴とする請求項 1 記載の未分化多能性細胞。

【請求項 3】

前記未分化多能性細胞は、象牙質形成能を有するものであることを特徴とする請求項 1 又は 2 記載の未分化多能性細胞。

【請求項 4】

歯関連細胞から未分化多能性細胞を得て、得られた未分化多能性細胞から関連組織又は歯を作製することを特徴とする関連組織又は歯作製方法。

【請求項 5】

前記歯関連細胞が歯嚢細胞及び歯髄細胞の少なくとも一方であることを特徴とする請求項 4 記載の関連組織又は歯作製方法。

【請求項 6】

前記未分化多能性細胞と、骨芽細胞誘導因子と、担体マトリックスとを混合することを含む請求項 4 又は 5 に記載の関連組織又は歯作製方法。

【発明の詳細な説明】**【0001】****【発明の属する技術分野】**

本発明は、未分化多能性細胞及びそれを用いた関連組織又は歯作製方法に関し、特に、歯科分野に限らず利用可能性の高い未分化多能性細胞及びこの未分化多能性細胞を用いた関連組織又は歯作製方法に関する。

【0002】**【従来の技術】**

現在の移植技術において、事故などで欠損した自己組織の修復に自己又は他人の組織が使用されている。特に、拒絶反応等の問題を回避するために、組織適合抗原が一致している組織を使用することが好ましいことは、一般的によく知られている。また、採取される細胞数が足りない場合などには、培養細胞を用いることも実施されている。しかし、同種の細胞を採取して培養する方法では、培養元となる細胞をそもそも採取できない場合や、他の部位から適切な細胞を採取できない場合などに対応することができないという問題がある。多くの場合、移植を受けるような状況は緊急性も高く、このようなときに、移植対象となる細胞そのものの提供を待つには、時間がかかりすぎる。これを解決するために、あらかじめ不要となった組織から幹細胞を採取しておくか、複数の細胞種に分化誘導可能な前駆体細胞、即ち幹細胞を利用することが提案されている。

【0003】

幹細胞のうち胚性幹細胞（ES細胞）があらゆる種類の組織にも分化することができ、増殖能力も高いことが知られている。しかし、胚性幹細胞の取扱いには倫理上の問題も多いため、胚性幹細胞ではなく、他の臓器中に存在する幹細胞の利用が提案されている。

特に、骨、軟骨、心臓、神経、腱などの細胞に分化することが確認されている間葉系幹細胞は、需要が高い適用臓器の範囲を網羅するため、注目を集めている。このような間葉系幹細胞は、骨髓（非特許文献 1 及び 2 参照）、末梢血（非特許文献 3 参照）、臍帯血（非特許文献 4 参照）、脂肪細胞（非特許文献 5 参照）などの組織から単離され、又はこれらの組織中でのその存在が示唆されている。

【0004】**【非特許文献 1】**

Mark F. Pittenger, et. al., Science, (1999) vol.284, pp143-147

【非特許文献 2】

Katia Mareschei, et. al., Haematologica (2001) vol.6, pp1099-1100

10

20

30

40

50

【非特許文献 3】

Sergei A. Kuznetsov, et al., The journal of Cell Biology, (2001) vol.153, pp1133-1139

【非特許文献 4】

Alejandro Erices, et al., British Journal of Haematology (2000) vol.109, pp235-242

【非特許文献 5】

Patricia A. Zuk, et al., Tissue Engineering (2001) vol.7(2), pp211-228

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、これらのいずれの組織からの単離方法も侵襲性であり、痛みを伴うという問題がある。また、臍帯血から得られる幹細胞は、血液幹細胞が多く間葉系幹細胞が少いと言われている。一方、骨髓由来の間葉系幹細胞は、骨髓バンクからの骨髓に頼らざるを得ないが、現状では骨髓バンクに登録されている骨髓の数が充分でない。その上、いずれの組織からの間葉系幹細胞の単離方法は、完成したものでない。

このように、間葉系幹細胞について複数の臓器での存在が示唆されているものの、このような未分化多能性細胞の入手がいずれも容易ではなく、利用価値の高い細胞であることが認識されているにもかかわらず、現在、その高く且つ緊急に対処すべき需要に応えていない。

従って、本発明は、非侵襲的に且つ容易に入手することができる未分化多能性細胞と、これを用いた利用価値の高い移植物を提供することを目的とする。

【0006】

【課題を解決するための手段】

本発明の未分化多能性細胞は、歯関連細胞由来の未分化多能性細胞であることを特徴とする。

また本発明の関連組織又は歯作製方法は、歯関連細胞から未分化多能性細胞を得て、得られた未分化多能性細胞から関連組織又は歯を作製することを特徴としている。

上記発明において歯関連細胞とは、歯嚢細胞及び歯髓細胞の少なくとも一方であることが好ましい。

【0007】

【発明の実施の形態】

本発明の未分化多能性細胞は、歯関連細胞に由来するものである。すなわち、本発明は、歯関連細胞に、多種の細胞に分化可能な未分化多能性細胞が含まれるという知見に基づいている。歯関連細胞は、骨髓等と異なり、親知らずなど不要となった歯を利用することもでき、容易に入手可能なものである。このため、本発明によれば、有用な未分化多能性細胞を、より簡便な経路で入手することができる。

【0008】

本発明における歯関連細胞は、哺乳類の口腔内にあって歯を構成する細胞群や、歯に付着して若しくは歯の周囲に存在する細胞群を言い、好ましくは歯髓細胞及び歯嚢細胞の少なくとも一方である。

図1に示されるように、萌出前の歯(歯胚)は、口腔粘膜組織に埋没しており、歯嚢により包まれている。

ここで、歯髓細胞とは、歯の中核にみられる血管と神経に富んだ結合組織の細胞群である。歯嚢細胞とは、歯槽突起内において萌出以前の歯を包む歯嚢を構成する細胞群である。本発明において、歯髓細胞及び歯嚢細胞とは、このような生体内での解剖学的な位置で特定される細胞群をそれぞれ意味する。

【0009】

これらの細胞は、当業界で既知の方法によって採取することができる。特に、歯の治療に伴う抜歯により得られた歯、又は抜歯の際に歯と共に歯肉から分離されたものに由来することが好ましい。多くの場合、抜歯は歯における異常/問題が原因で行われるため、抜歯

10

20

30

40

50

に伴い入手可能な歯関連細胞自体は、細胞の有する特性をそのまま保持している。このため、このような歯関連細胞を使用することが有利である。

【0010】

特に、いわゆる「親知らず」については、しばしば不要となって抜歯することが多く、親知らずの抜歯は、まだ萌出していないときに行う場合もある。このため、歯を包む歯嚢細胞を採取するには特に好ましい。このような細胞の入手方法を採用することによって、従来、廃棄物として処理されていた歯関連細胞を有効に利用することができると共に、細胞の入手を目的としては新たに痛みを伴うことなく所望の細胞を得ることができる。

【0011】

なお、回収された歯関連細胞に、例えば結合組織やデブリスなどが含まれている場合には、適当な酵素、例えばディスパーゼ、トリプシンなどや、ナイロンメッシュなどを用いて除去することができる。

【0012】

本発明における未分化多能性細胞は、上述のようにして回収された歯関連細胞集団を外植片培養(explant culture)に付して、付着細胞群を選別することによって、容易に単離することができる。ここで用いられる培地には、細胞培養の分野で既知の培地、例えばダルベッコ改変イーグル最小培地(DMEM)(10%FBSを含む)が挙げられる。この際に培養条件としては、5%CO₂下、室温37度、湿度90%下とすることが好ましい。なお、これらの培養条件及び培地は、回収された未分化多能性細胞の細胞数を増やすための培養にも、同様に適用される。

【0013】

本発明の未分化多能性細胞とは、多種の細胞に分化可能な付着性の細胞である。これらの細胞は、未分化間葉系幹細胞に近い性質を示し、間葉系幹細胞と同様の表面マーカー、例えばCD105、CD106、CD29、CD44をポジティブとし、CD14、CD34、CD45をネガティブ発現していると考えられる。

本発明の未分化多能性細胞は、好ましくは、象牙質形成能を有する象牙芽細胞への誘導能を有する。特に、歯嚢細胞又は歯髓細胞由来の未分化多能性細胞は象牙芽細胞への誘導能を有している。この象牙芽細胞への誘導能は、当業界で既知の方法によって確認することができる。即ち、特定の細胞への分化誘導が知られている誘導因子を培地に添加して培養することにより、特定細胞に分化させることができる。また、形態に特徴のある細胞群への分化誘導は、分化後の形態によって確認することができる。

【0014】

特に、象牙芽細胞への誘導能は、骨芽細胞誘導因子を付加することにより確認することができる。骨芽細胞誘導因子としては、デキサメタゾン、アスコルビン酸、β-グリセロホスフェート、などを挙げることができる。

【0015】

本発明の未分化多能性細胞は、その機能に基づいて分化させて、多種の細胞を供給するために用いることができる。多種の細胞を得るために個々の組織から目的とする細胞を直接採取することや骨髓等から幹細胞を得ることと比較して、本発明の未分化多能性細胞を用いることにより、目的とする細胞を容易にかつ大量に得ることができる。

【0016】

特に、本発明には、上記未分化多能性細胞を用いて、この未分化多能性細胞から関連組織又は歯を作製することが含まれる。

ここで、「関連組織又は歯」とは、未分化多能性細胞に関連する組織をいい、関連組織には、骨、軟骨、神経などが含まれ、歯には、歯自体のみならず、歯の周囲に存在する組織、例えば歯周組織、象牙質、セメント質、エナメル質、骨、歯根膜組織、結合組織などが含まれる。「関連組織又は歯」の作製とは、いずれか一方のみを作製する場合だけでなく、これら両者の双方を作製する場合も含む。

未分化多能性細胞から関連組織又は歯を作製するには、既知の誘導因子を用いて目的組織へ分化誘導することが含まれ、例えば、骨芽細胞誘導因子を用いて象牙質形成能を刺激す

10

20

30

40

50

ることが含まれる。

好ましくは、未分化多能性細胞と、上述の骨芽細胞誘導因子と、担体マトリックスとを混合することが含まれる。担体マトリックスとしては、ハイドロキシアパタイトなどのセラミックス、 β -TCP (β -tricalcium phosphate) などのリン酸化合物、多血小板血漿 (PRP)、吸収性コラーゲン、フィブリンのりなどが挙げられる。なお、 β -TCP としては、気孔率が90%、気孔径が200~400 μ mのものが好ましい。

【0017】

未分化多能性細胞に対する骨芽細胞誘導因子及び担体マトリックスの混合量は、通常この目的で用いられる量でよく、当業者に既知である。好ましくは、未分化多能性細胞の細胞数を 10^6 個/mlとした場合に、骨芽細胞誘導因子は、 10^{-5} M ~ 10^{-12} M のデキサメタゾン、5 mM ~ 25 mM の β -グリセロフォスフェート、0.01 mM ~ 1 mM のアスコルビン酸がそれぞれ選択される。また、それぞれ 10^{-8} M のデキサメタゾン、10 mM の β -グリセロフォスフェート、0.05 mM のアスコルビン酸とすることが特に好ましい。

混合は、上記濃度における細胞混濁液下に担体を浸漬し培養を行うことで行う。またPRPは、10% CaCl₂ / トロンピンと1:1 ~ 10:1の混合比、好ましくは6:1の混合比で、細胞 10^7 個/mlと混合する。

【0018】

本発明により得られた歯とは、象牙質で形成された歯又はその一部を含み、歯又は歯断片として種々の歯科治療に用いることができる。これにより、従来、無機物を利用して行っていた歯の欠損部の治療に適用して、生体に近い状態に修復させることができる。

また、本発明により得られた歯若しくは歯断片や歯周辺組織、或いは未分化多能性細胞の関連組織を予め大量に作製しておき、必要時に備えておくことができる。これにより、多種の組織を容易に提供することができる。

さらに、本発明による関連組織又は歯では免疫原性が低いことも考えられ、この場合には、自家及び他家にかかわらず広く利用することができる。

【0019】

【実施例】

1. 未分化多能性細胞の回収及び分化誘導

[試料の調製]

不要となって拔牙を行ったヒト第3大臼歯歯胚をインフォームドコンセントを得た後に採取した。採取後、可及的速やかに歯胚より、歯嚢組織、及び歯髄組織を肉眼的に切離、採取した(図1参照)。口腔粘膜細胞は、歯胚周辺の粘膜組織より採取した。

それぞれの組織を、75 cm² フラスコにて外植片培養に付した。使用培地は、ギブコ社製、ダルベッコ改変イーグル培地 (DMEM) に20% ウシ胎児血清 (FBS)、4 mM のグルタミン及び0.05 U/ml のペニシリン/ストレプトマイシンを添加したものをを用いた。培養条件は、37℃、5% CO₂ 下で、30日程度培養し、試料を得た。なお、培地の交換は2-3日毎に行い、細胞の継代は、細胞密度に応じて当業界で通常行われるようにして行った。得られた細胞は、その付着性及び形態によって特定した。

【0020】

[RNAの採取]

外植片培養により得られた細胞をそれぞれ、骨芽細胞誘導因子を添加した培地を用いて、象牙芽細胞へ分化誘導させた。

細胞の播種密度は、直径10 cmのディッシュに 3.1×10^3 個/cm² とした。使用培地は、20% ウシ胎児血清 (FBS)、4 mM のグルタミン及び0.05 U/ml のペニシリン、ストレプトマイシン0.05 μ g/ml を添加し、更に、骨芽細胞誘導因子として、細胞 10^6 個/ml あたり、 10^{-8} M のデキサメタゾン、0.05 mM のアスコルビン酸2リン酸塩、10 mM の β -グリセロリン酸を添加したDMEM培地を用いた。RNAの採取は、キアゲン社製RNA採取キット (RNeasy) を用い、3、6、9、15、21、27日にそれぞれの細胞について行った。採取は既知のプロトコールに従っ

10

20

30

40

50

た。採取したRNAはcell bankerを用いて - 140 にて冷凍保存した。

【0021】

[リアルタイムRT-PCR]

リアルタイムRT-PCRは、アプライドバイオシステム社製AB1・プリズム7000・シーケンス・ディテクション・システム (AB1 Prism 7000 Sequence detection system)を用い測定を行った。シーケンスに用いたプライマー及びタックマンプローブには、以下のものを作製し、用いた。デンチンシアロプロテイン (DSP)、デンチンシアロホスホプロテイン (DSPP)、デンチンホスホプロテイン (DPP) 及びデンチンマトリックスプロテイン1 (DMP1) は、いずれも分化成熟過程の象牙芽細胞に発現するマーカーであることが知られている。

10

【0022】

DSPP:

DSPP - 163F (GCCATTCCAGTTCCTCAAAGC: 配列番号1)

DSPP - 307R (CATGCACCAGGACACCACTT: 配列番号2)

DSPP - 283Probe (TGATGGTCCACTGGCATTAACTCATCC: 配列番号3)

DMP1

DMP1 - 105F (GATCAGCATCCTGCTCATGTTC: 配列番号4)

DMP1 - 214R (GAGCCAAATGACCTTCCATT: 配列番号5)

DMP1 - 140Tprobe (CCTGTGCTCTCCAGTAACCAGGTATCAAA: 配列番号6)

DSP:

DSP - 3083F (GTGAAATATCTGGCAAACGAGACA: 配列番号7)

DSP - 3204R (CAGAGTTTCCAGTCTGAGGTGTA: 配列番号8)

DSP - 3127Tprobe (ATTGCTGAACCTTTCGCAATTCA: 配列番号9)

DPP:

DPP - 39F (TGATGCTAATTCAGAAAGTGACAATAAC: 配列番号10)

DPP - 154R (CATCATCTTCTGCTCCTTTTGAGTC: 配列番号11)

DPP - 103Tprobe (CATCAGAGTTATAAGAAGCATCTCCTCGGC: 配列番号12)

20

【0023】

結果をそれぞれ図2 (DSPP)、図3 (DMP1) 及び図4 (DSP) にグラフとして示す。なお、各グラフは、リアルタイムRT-PCRの測定結果を数値化して相対的にグラフ化したものであり、×は歯髄細胞由来の未分化多能性細胞、○は歯嚢細胞由来の未分化多能性細胞、黒三角は口腔粘膜細胞をそれぞれ示す。

30

図1乃至図4に示されるように、歯髄細胞及び歯嚢細胞におけるDSPP、DMP1及びDSPはいずれも、培養開始後約2週間を経過した頃から高く検出された。これらは、口腔粘膜細胞のものよりも高い値を示していた。このことは、口腔粘膜細胞と比較して、歯髄細胞及び歯嚢細胞では、培養開始後では未分化細胞であったが、培養によって分化成熟が進行して象牙芽細胞へと分化したことを示唆しており、上皮細胞とは明らかに異なる細胞であることを意味する。

特に、骨芽細胞誘導因子に対する感受性については、歯髄細胞よりも歯嚢細胞の方が高いことが示された。このことは、歯嚢細胞が、歯髄細胞よりも未分化で、象牙質形成能の高い細胞であることが考えられる。

40

このように、歯嚢細胞及び歯髄細胞に由来する細胞群には、他の細胞系統に分化可能な未分化多能性細胞が含まれることが示された。

【0024】

2. 歯関連細胞由来の未分化多能性細胞と骨髄系幹細胞との比較

次いで、本発明の歯関連細胞として歯髄細胞を用いて、歯髄細胞における多能性を骨髄細胞由来の間葉系幹細胞と比較した。

歯髄細胞は、上述と同様にして採取した。一方、骨髄系幹細胞は、腸骨稜より骨髄液を採取し、分離同定した。この方法の詳細は当業界において周知である。歯髄組織は、肉眼的には歯牙の硬組織に囲まれた内側に存在する組織とされるため、抜去歯などを用いて肉眼

50

的に同定を行い採取した。

硬組織形成の指標としては、アルカリホルフターゼ (ALP) 活性を用いた。ALP 活性は、一複合体あたりの値として算定した。上清 5 μ l を用い、50 mM の p - ニトロフェニルリン酸 (1 mM の MgCl₂ 含有) 1 ml 中に滴下した。その後、混合液 37、30 分反応させ、0.2 N の水酸化ナトリウムにて反応停止後、410 nm の吸光度を測定して行った。

骨髄系幹細胞 (□) 及び誘導後のもの (○)、歯髄細胞由来未分化多能性細胞 (黒三角) 及び誘導後のもの (●)、口腔粘膜細胞 (×) それぞれの結果を、図 5 に示す。

【0025】

図 5 に示されるように、誘導因子によって骨芽細胞に誘導された歯髄細胞及び間葉系幹細胞は共に、培養開始後 18 日頃から DMP-1 の活性が上昇し (図 5 (A) 参照)、これと共に ALP 活性も上昇した (図 5 (B) 参照)。

このことは、骨芽細胞誘導因子によって、骨髄由来の間葉系幹細胞と同様に、歯髄細胞が骨芽細胞に分化誘導されたことを示唆し、骨髄由来の間葉系幹細胞と同等の多能性を有していると考えられる。

むしろ、ALP 活性の点では歯髄細胞由来の骨芽細胞の方が、間葉系幹細胞由来の骨芽細胞よりも高い活性を示しており、歯髄細胞由来の未分化多能性細胞は、骨形成について間葉系幹細胞よりも有用であることが示唆された。

【0026】

3. 未分化多能性細胞による関連組織又は歯作製

更に、歯髄細胞と担体マトリックスとを混合することによる関連組織又は歯の形成について検討した。

担体マトリックスとしては、 β -TCP を使用し、骨芽細胞誘導因子は上述と同一のものをを用いた。これらを β -TCP (直径 5 mm、高さ 4 mm の円柱ブロック、気孔径 200 ~ 400 μ m、気孔率 90%) に対し細胞数 10^6 cells/ml の濃度で歯髄細胞と混合し、37、5% CO₂ 下で 20 日間継代培養した後、ヌードマウス背部皮下に移植した。

【0027】

移植後 16 日後には、顕微鏡所見で、担体の腔内に硬組織様組織 (象牙質様組織：星状細胞) が観察され、象牙質が形成されたことが示された。このことは、歯髄細胞由来の未分化多能性細胞は、 β -TCP と混合することによって、より強い歯牙形成能を有することを示唆している。

この結果から、欠損した歯の一部から組織の再生を行って修復するだけでなく、個別に歯の断片を作製して、歯の修復に使用することができることが示唆されている。

【0028】

従って、本発明の未分化多能性細胞は、通常、廃棄されることが多い抜歯された歯から容易に入手することができると共に、他の系統の細胞に分化可能な未分化多能性細胞である。また、このような未分化多能性細胞を用いることによって、歯の修復断片等を大量に作製することができ、歯又は歯周辺組織の治療に有効に利用することができる。更に、未分化多能性細胞の関連組織を、歯と同様に作製して、組織の提供を必要とする様々な治療に有効に用いることができる。

【0029】

【発明の効果】

本発明によれば、非侵襲的に且つ容易に入手することができる未分化多能性細胞と、これを用いた利用価値の高い移植体とを提供することができる。

【0030】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Yoichi Yamada

Makoto Takahashi

Hideaki Kagami

Minoru Ueda

<120> Immature multi-potent cells and a method for making a related tissue there of and tooth

10

<160> 12

<210> 1

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificially Synthesized Primer Sequence

<400> 1

gccattccag ttctcaaag c

20

<210> 2

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificially Synthesized Primer Sequence

<400> 2

catgcaccag gacaccactt

<210> 3

30

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificially Synthesized Primer Sequence

<400> 3

tgatggttcc actggcattt aactcatcc

<210> 4

<211> 22

40

<212> DNA

<213> Artificially Synthesized Primer Sequence

<400> 4

gatcagcatc ctgctcatgt tc

<210> 5

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificially Synthesized Primer Sequence

<400> 5

gagccaaatg accttccatt

<210> 6

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificially Synthesized Primer Sequence

<400> 6

ccgtgctct cccagtaacc aggtatcaaa

<210> 7

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificially Synthesized Primer Sequence

<400> 7

gtgaaatatc tggcaaacga gaca

<210> 8

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificially Synthesized Primer Sequence

<400> 8

cagagtttcc agtcctgagg tgta

<210> 9

<211> 24

10

20

30

40

〈212〉 DNA

〈213〉 Artificially Synthesized Primer Sequence

〈400〉 9

attgctgaac tttgcgccaa ttca

〈210〉 10

〈211〉 28

〈212〉 DNA

〈213〉 Artificially Synthesized Primer Sequence

〈400〉 10

tgatgctaata tcagaaagtg acaataac

〈210〉 11

〈211〉 25

〈212〉 DNA

〈213〉 Artificially Synthesized Primer Sequence

〈400〉 11

catcatcttc tgctcctttt gagtc

〈210〉 12

〈211〉 27

〈212〉 DNA

〈213〉 Artificially Synthesized Primer Sequence

〈400〉 12

catcagagtt ataagcatct cctcggc

10

20

30

40

【図面の簡単な説明】

【図 1】本発明に係る歯髄細胞及び歯嚢細胞を示す模式図である。

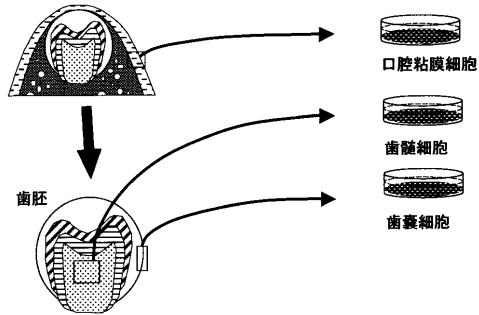
【図 2】本発明の実施例にかかる歯髄細胞等の D S P P 活性を説明するグラフである。

【図 3】本発明の実施例にかかる歯髄細胞等の D M P 1 活性を説明するグラフである。

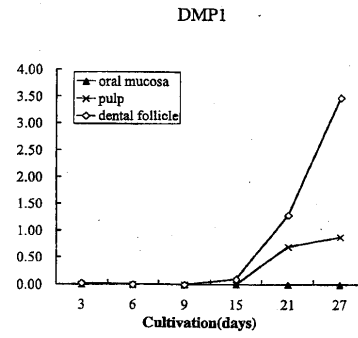
【図 4】本発明の実施例にかかる歯髄細胞等の D S P 活性を説明するグラフである。

【図 5】（ A ）は、本発明の実施例にかかる歯髄細胞等の D M P 1 活性を説明するグラフ、（ B ）は、（ A ）と同一の細胞の A L P 活性を説明するグラフである。

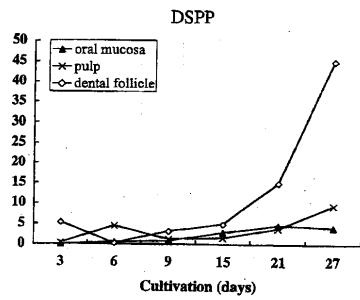
【 図 1 】



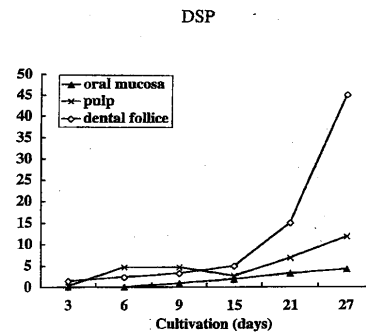
【 図 3 】



【 図 2 】

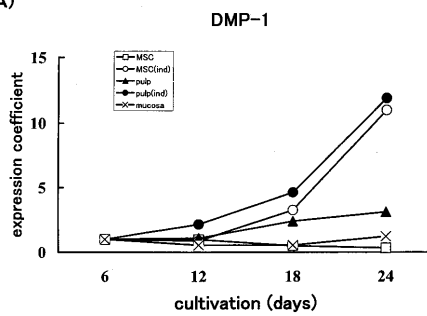


【 図 4 】

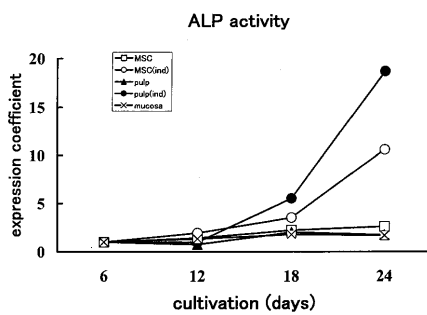


【 図 5 】

(A)



(B)



フロントページの続き

(72)発明者 山田 陽一

愛知県知多郡武豊町字梨子ノ木 3 5 6 - 7

(72)発明者 高橋 誠

岐阜県岐阜市加納清水町 4 - 1 1

(72)発明者 各務 秀明

愛知県名古屋市中区城東町 4 - 8 5 サンパーク志賀本通 1 3 0 1

(72)発明者 上田 実

愛知県日進市岩崎台 2 - 4 1 5

F ターム(参考) 4B024 AA01 BA80 CA01 CA12 HA08 HA11

4B065 AA93X AC20 BA25 BB19 BB40 BC41 BD39 CA44

4C081 AB06 BA12 CD34