

2016年度
日本再生医療学会

奨励賞

(臨床)

ヒト口腔粘膜由来の sphere 形成細胞は、 神経堤由来細胞を多く含む

Sphere-derived multipotent progenitor cells derived from oral
mucosa are enriched in neural crest cells

阿部 成宏¹⁾²⁾ 山口 聡¹⁾ 依田 哲也¹⁾

Shigehiro Abe¹⁾²⁾

Satoshi Yamaguchi¹⁾

Tetsuya Yoda¹⁾

¹⁾ 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 顎顔面外科学分野

²⁾ 東京都立広尾病院 歯科口腔外科

E-mail : sabemfs@tmd.ac.jp

KEY WORDS

口腔粘膜, Neurosphere 培養, 神経堤幹細胞, 細胞分化

Abstract

Complex methods for neural crest stem cells (NCSCs) isolation are currently not convenient for the clinic. The sphere culture technique is a convenient method for isolating stem cells. However, isolation and characterization of human oral mucosa stromal cells (OMSCs) using this system is not fully understood. Therefore, we have described the isolation of neural crest progenitor cells from oral mucosa using this system. We show that human OMSCs form spheres that exhibit self-renewal capabilities and multipotency, and that they are enriched with neural crest-derived cells. In addition, we demonstrate that these oral mucosa sphere-forming cells can generate ectopic bone tissue *in vivo*. Therefore, our study shows that the sphere culture system can be applied, without the need for complex isolation techniques, to produce multipotent spheres with the properties of NCSCs. Furthermore, we demonstrate a convenient strategy for the isolation and culture of human OMSCs that could have clinical applications.

はじめに

口腔粘膜は、採取の簡便さから顎口腔領域の新たな細胞供給源として注目されている。口腔粘膜は、骨の裏打ちのある咀嚼粘膜(歯肉, 歯槽粘膜および口蓋粘膜), 裏打ちのない被覆粘膜(口唇粘膜, 頬粘膜, 口腔前提および口底粘膜)および舌背部の特殊粘膜に分類される(図1)。これらの組織は、比較的大きな組織欠損においても早期に治癒する再生能力の高い組織である。解剖学的には、表層から重層扁平上皮層, 粘膜固有層, 粘膜下組織により構成されている(図2)。

当初、口腔粘膜由来間葉系細胞が間葉系幹細胞の特性を保持していることが報告されたが、実は神経堤幹細胞としての特性も保持していることが報告された¹⁾⁻¹¹⁾。Xuらは、神経堤をトレースできる *Wnt1-Cre ; R26R* トランスジェニックマウスを用いて歯肉由来のコロニー形成細胞の実に約90%が神経堤由来であることを見出した¹²⁾。しかしながら、ヒトでは本実験手法を用いた解析を行うことができない。

神経堤幹細胞に関しては、げっ歯類およびヒトにおいて皮膚, 骨髄, 歯髄から Neurosphere 培養法を用いて単離されている¹³⁾⁻¹⁹⁾。Neurosphere 培養法は非常に簡便に神経堤幹細胞の単離法であると同時に一つの表現型となっている。しかしながら、本手法を用いてヒト口腔粘膜間質細胞を詳細に検討した報告はなかった。

そこで、我々は口腔外科処置の際に採取されたヒト