

学 位 論 文 要 旨

氏 名 森山 和の



論 文 題 目

「Differences in pluripotency of jawbone- and iliac bone-
derived mesenchymal cells」
(顎骨由来および腸骨由来間葉系細胞の多分化能の差異について)

指 導 教 授 承 認 印

武 田 啓



Differences in pluripotency of jawbone- and iliac bone- derived mesenchymal cells

(顎骨由来および腸骨由来間葉系細胞の多分化能の差異について)

氏名 森山 和の

間葉系細胞 (mesenchymal cells ; MCs) は骨組織や脂肪組織等多くの組織から単離されるが、これらの中には様々な組織細胞への分化誘導が可能な、間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cells ; MSCs) 様の性質を有しているものがある。腸骨海綿骨から単離した MCs も骨前駆細胞としての性質だけでなく、分化誘導により軟骨、脂肪への分化が可能であり、MSCs 様な性質を有している。一方顎骨からも MSCs 様の性質を有した MCs の単離が可能であり、臨床においては、頭蓋顎顔面外科領域の分野における臨床応用が報告されている。同じ間葉系細胞であっても、腸骨組織と顎骨組織は発生時における起源が異なるため、その生物学的活性も異なる可能性があるが、その詳細は不明である。そこで今回腸骨と顎骨の間葉系細胞の生物学的検討として、骨分化誘導、脂肪分化誘導、軟骨分化誘導に対する細胞動態の差異を、定性・定量にて検討した。

北里大学医学部・病院 倫理委員会によって承認された本研究は、書面によるインフォームドコンセントの取得後に行われた。手術時に余剰となった腸骨 4 検体、上顎骨 4 検体、下顎骨 4 検体、歯槽骨 4 検体 (上顎骨由来) を対象とし、それぞれ骨、脂肪、軟骨分化誘導した群 (分化誘導群) と行わない群 (非分化誘導群) での定性・定量を行った。

骨形成能の定性・定量は Ca 濃度測定、アリザリンレッド S 染色、脂肪形成能の定性はオイルレッド O 染色、軟骨形成能の定性・定量は HE 染色、トルイジンブルー染色、real time RT-PCR を行った。

骨形成能については、Ca 濃度は分化誘導群で誘導 2~3 週目より増加するとともにアリザリンレッド S 染色で染色されたが、石灰化の強さは Non-repeated measure ANOVA+Kruskal Wallis H-test で有意差が認められなかった。脂肪形成能については、分化誘導群はオイルレッド O 染色で染色された。染色による脂肪滴形成能の強さは 3 群に分かれ、腸骨由来>下顎骨由来>上顎骨由来の順であり、歯槽骨由来は脂肪への分

化誘導を認めなかった。軟骨形成能については、誘導群の HE 染色では細胞の最外側は軟骨膜に類似した被膜の形成を認め、トルイジンブルー染色ではメタクロマジーを認めた。real time RT-PCR による軟骨形成能の強さは 3 群に分かれ、強さの順に腸骨由来>歯槽骨由来>上顎骨由来=下顎骨由来であったが、歯槽骨由来は軟骨形成を認める群と認めない群の 2 群に分かれた。

我々の骨形成能の結果では採取部位による誘導の差は認められなかったが、歯科口腔外科領域に伴う骨移植術では、口腔領域でない腸骨より顎顔面から採取した骨を用いる方が良好な臨床成績を示すことが報告されている。腸骨組織は軟骨内骨化であり顎骨組織は膜内骨化を辿るが、軟骨内骨化と膜内骨化では異なるサイトカインが必要である事も報告されており、発生学的な由来を考慮した骨移植の有用性が議論されている。大腿骨や腸骨に存在する MSCs はドナーの年齢が高くなるにつれて骨への分化能力が低下することが分かっており、同等量の骨移植が必要であった場合、顎骨はドナーとしてより最適な部位であると考えられる。脂肪形成能は腸骨由来 MCs が脂肪への分化誘導能が高かった。思春期以降増血の中心を成していた脊椎の増血髄は、60 歳頃より急速に減少し始め脂肪髄が大半を占めるようになる。その増血髄部分は椎体、腸骨、胸骨が多いことが今回の結果に影響していると考えられる。また上顎骨由来 MCs と下顎骨由来 MCs は腸骨由来 MCs に比べ脂肪への分化誘導能が低いことから、顎骨再建時のドナーとして顎骨由来 MCs は有用であると考えられた。軟骨形成能は歯槽骨由来 MCs の real time RT-PCR 結果において軟骨分化誘導される群とされない群の 2 群に分かれた。生体の歯髄に存在する Dental pulp stem cell : DPSC、脱落した乳歯の歯髄に存在する Stem cells from human exfoliated deciduous teeth : SHED、歯根膜から同定された Periodontal ligament stem cell : PDLSC などがある。軟骨分化能で比較すると骨髄由来 MSCs は SHED と DPSC より高い軟骨分化能を有しており、軟骨分化に高レベルの遺伝子を発現している。また TGF- β -1 の存在下で PDLSC は歯髄由来 MSCs より高い軟骨分化能を有している。今回の症例は軟骨誘導された群のドナー年齢が 16 歳と 20 歳、軟骨誘導されない群のドナー年齢が 7 歳と 9 歳であった。このことから歯槽骨には viability の異なる幹細胞が存在しそれが軟骨形成能の違いとなっているのではなく、学童期における永久歯放出前と青年期とのドナーの違いが影響していたと考えられる。臨床での骨移植再建の際は、MCs の採取部位による性質を十分に理解し、より適した部位をドナーとして選択する事が望ましい。一方で年齢による分化誘導の差異があることや採取できるドナーの量に限界がある事から、今後益々

この分野での再生医療技術の臨床展開が重要と考える。