

論文内容要旨(甲)

論文題名 **Bone regeneration using neural crest-derived cells in the nasal conchae.**

(鼻介腔における神経堤由来細胞を用いた骨再生)

掲載雑誌名 **PLOS ONE** (投稿中)

歯科矯正学 吉田 寛

内容要旨

【目的】 神経堤細胞は胎生初期の神経管癒合部から生じ、神経堤由来細胞 (以下 NCDCs) として胚内を遊走し定着先の環境で多様な細胞に分化する。一部の NCDCs は、未分化な状態で体内各所に潜伏するため、再生医療の細胞ソースとして期待されており、NCDCs が鼻甲介に高密度に局在することは既に報告されている。一方で、頻度の高い先天疾患である口唇口蓋裂では、慢性的な鼻疾患になりやすいことから感染による鼻甲介の肥大が惹起される。肥大した鼻甲介は顎裂部へ下垂し骨移植部位に侵入する頻度が高いため、しばしば切除される。以上より、鼻甲介に含まれる NCDCs の骨芽細胞誘導と骨欠損モデルマウスへの移植から骨誘導能を解析した。

【材料および方法】 神経堤由来細胞のマーカーとして知られるミエリンタンパク質ゼロ (以下 P0) は、胎生初期のみに発現しその後消失してしまうため、NCDCs を標識可能な P0-Cre/CAG-CAT-EGFP 成体マウス (以下 P0 マウス) を用いた。P0 マウス鼻甲介から採取した細胞を培養後、種々の誘導培地を用いて誘導した。分化能については種々の細胞染色および遺伝子発現を解析した。自然修復しない頭頂骨の部分骨欠損を作成したモデルマウスへ、NCDCs を混入したアテロコラーゲンスポンジ (以下担体) を移植し術後 12 週間の修復過程を μ CT 撮影で評価した。修復組織は H-E 染色および von kossa 染色、細胞マーカーは PKH26 により各々観察した。再生組織の分子構造にはラマン分光法で構造解析を行った。

【結果】 P0 マウス鼻甲介から採取した NCDCs は、bFGF 含有無血清培地で培養すると、経時的に細胞数と GFP 陽性率が増加した。BMP-2 含有の骨芽細胞分化誘導培地で強いアルカリホスファターゼ活性染色とアリザリンレッド染色陽性を示す骨芽細胞様細胞へと分化した。軟骨細胞分化誘導培

地でアルシアンブルー陽性を示す軟骨細胞様細胞へ分化し、脂肪細胞分化誘導培地で脂肪滴を含む脂肪細胞様細胞へ分化した。種々の分化誘導培地によって、それぞれ特異的な遺伝子発現の優位な上昇を認めた。NCDCsを含む担体を骨欠損部位に移植すると、 μ CT上では不透過像による修復が認められるものの、修復量に有意な差を認めなかった。組織学的解析では、骨組織の形成が担体内に認められた。細胞膜表面でマーカー可能な PKH26 を用いて担体内の NCDCs の経過を観察すると、明らかに NCDCs は減少した。ラマン分光法では、NCDCs を含む担体は既存の骨に近いリン酸基/アミド III 基のピーク比を示し、担体のみと比較して石灰化度が高いことを示した。

【結論】 鼻甲介の NCDCs は移植後 12 週間によって既存の骨に近い石灰化度を有することから、顎顔面領域より低侵襲に採取できる細胞ソースとして硬組織再生療法に応用できることが示唆された。