

補綴医に贈る再生医療の話 第2回
補綴歯科領域で期待される幹細胞

新部邦透, 江草 宏

Topics of regenerative medicine for prosthodontists
Promising Stem cells for Prosthodontics

Kunimichi Niibe, DDS, PhD and Hiroshi Egusa, DDS, PhD

抄 録

近年, 歯学領域では顎骨や歯周組織, 歯の再生医療を目的とした幹細胞研究が盛んに行われている。また, 補綴歯科領域における幹細胞研究は再生医療にとどまらず, 疾患モデルの構築や創薬研究へと発展しつつある。安定した再生医療の確立には, 用いる幹細胞の発生学的な由来を考慮し, 本来たどってきた発生過程を模倣した組織再生をいかに導くかが鍵と考えられている。特に歯はユニークで複雑な発生過程をたどるため, 選択した細胞によってその過程を再現する方法は異なってくる。本稿では, 組織再生に重要な要素の一つである「細胞」に焦点を当て, 補綴歯科領域に応用可能と期待されるさまざまな幹細胞を紹介する。

キーワード

間葉系幹細胞, 多能性幹細胞, 再生医療, 歯科補綴学

ABSTRACT

Stem cell research in the field of dentistry has been widely conducted as regenerative research, targeting bones, periodontal tissues, and teeth. In the field of prosthodontics, stem cell research has recently helped achieve the establishment of disease models and drug discovery research. Regarding regenerative medicine, the use of stem cells is thought to be a major key factor for achieving reliable regenerative medicine. The tooth developmental process goes through an induction phase between the epithelial and mesenchymal stages regulated by complex signaling molecules. Therefore, the mimicking process will be affected by the type of stem cell selected. In the present report, we will introduce the different types of stem cells that can be applied to regenerative dentistry.

Key words:

Mesenchymal stem cell, Pluripotent stem cell, Regenerative medicine, Prosthodontics

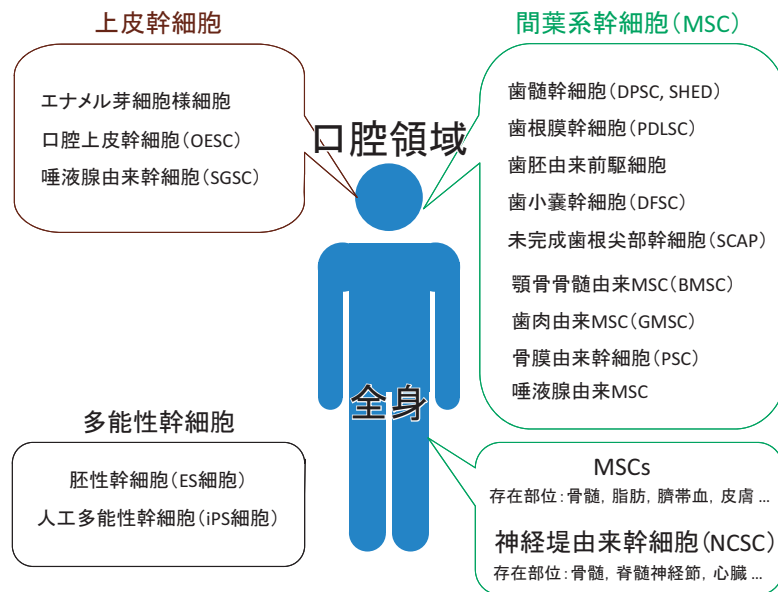


図1 補綴歯科領域の再生医療に期待される幹細胞

I. はじめに

本シリーズは「補綴歯科医に贈る再生医療の話」と題し、再生医療が補綴歯科領域へどのように関わるかを述べていく。シリーズ第1回の稿にあるように、歯科領域では間葉系幹細胞 (Mesenchymal stem cell: MSC) が先進医療として臨床応用され、幹細胞治療の先駆けとして一定の成果をあげている。歯科基礎医学研究では、幹細胞を用いることでインプラント周囲に機能的な歯根膜を付与する技術が報告された¹⁾。また、人工多能性幹細胞 (induced pluripotent stem cell: iPS細胞)²⁾ は、再生医療だけでなく、睡眠時ブラキシズムなどの疾患モデルの構築に応用され、創薬の可能性を切り開こうとしている³⁾。このように、補綴歯科領域において幹細胞研究に対する期待は増すばかりである。

補綴歯科診療は、失われた歯や歯質を人工材料で補う治療であるが、患者自身の細胞による「歯の再生」は究極の補綴治療として期待されている。夢と思われていた歯の再生であるが、2000年代に入って、胎仔から取り出した歯原性上皮細胞と間葉細胞を試験管内で接触させ、人為的に歯胚を構築する「器官原基法」が確立されたことで⁴⁾、その前途に光明が見え出してきた。しかしながら、歯胚は上皮細胞と間葉細胞の複雑な相互作用により発生することから、その模倣には困難が伴う。また、歯胚の材料となる幹細胞をどのように用意するかも大きな課題である。

発生学的に、歯原性間葉は歯髄、象牙質、セメント質、歯根膜、固有歯槽骨等の組織を作り出す。歯原性間葉は、発生のごく初期の胎生期に神経ヒダの側面に存在する外胚葉細胞が神経管の両側に移動し形成される神経堤の幹細胞に由来している⁵⁾。胎生期に重要な役割を果たす神経堤由来幹細胞 (Neural crest stem cell: NCSC) であるが、発生が進むと神経堤は消失するため NCSC の採取は非常に困難となる。また、歯原性上皮細胞は生体外に取り出すと本来の性質を失いやすいため、培養の維持が難しい。したがって、歯の再生医療の実現には、発生学的な由来を考慮した細胞源の確保、およびその培養方法の確立が重要であり、その上で発生過程をいかに模倣できるかが鍵となる⁶⁾。

以上を背景に、シリーズ第2回となる本稿では、補綴歯科領域の再生医療に期待されるさまざまな幹細胞を紹介する。

II. 補綴歯科治療に応用可能な幹細胞

口腔領域から採取された幹細胞は高い増殖能と分化能を有することから、再生医療における有用性が期待されている⁷⁾。本項では、補綴歯科治療への応用が期待される幹細胞について、口腔領域とそれ以外の領域から採取される幹細胞に分け、各幹細胞を MSC と上皮幹細胞に分類する。加えて、患者から採取可能なこれらの幹細胞よりも圧倒的に高い増殖能と分化能を有する多能性幹細胞を紹介する (図1)。

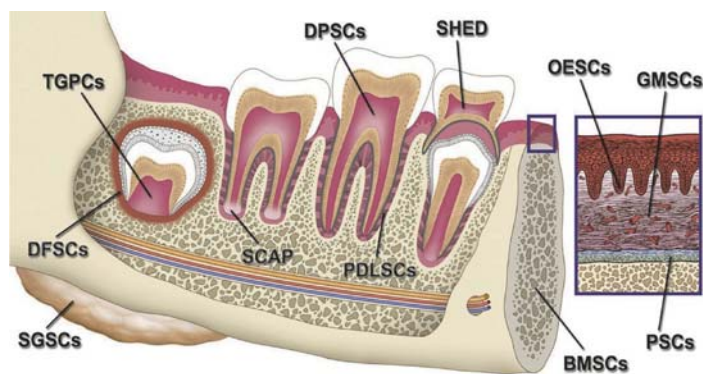


図2 歯科領域で採取可能な幹細胞 (Egusa らの総説論文⁷⁾ より許可を得て転載)

1. 口腔領域から採取可能な幹細胞

1) MSC

(1) 歯原性組織由来 MSC

神経堤に由来する歯原性組織には、高い増殖能と分化能を有するさまざまな幹細胞が存在する (図2)。成体の歯髄には歯髄幹細胞 (Dental pulp stem cell: DPSC)⁸⁾、脱落した乳歯の歯髄にはヒト脱落乳歯歯髄細胞 (Stem cells from human exfoliated deciduous teeth: SHED) が存在し、象牙質、骨、神経へと分化する⁹⁾。歯根膜から同定された歯根膜幹細胞 (Periodontal ligament stem cell: PDLSC) は、セメント質、骨、歯根膜を形成する¹⁰⁾。埋伏第三大臼歯から同定された歯胚由来前駆細胞¹¹⁾は、骨、神経、さらには肝細胞へ分化する。乳歯・永久歯の発生過程で歯胚周囲を取り巻く歯小嚢幹細胞 (Dental follicle stem cell: DFSC) は、歯根膜への分化能を保持している¹²⁾。歯根の成長が進んだ未完成歯根尖には Stems cell from the apical papilla (SCAP) が存在し、PDLSC と組み合わせることで、歯根膜と象牙質が部分的に構築される¹³⁾。このように、口腔領域には、歯周組織や象牙質へと分化するさまざまな幹細胞が存在している。

しかしながら、歯や歯周組織は皮膚や血液と比較すると、バイオプシー (生体組織採取検査) には適さない。また、歯原性組織に由来する幹細胞は、すでに無歯顎となった患者からは採取できない。これらの課題を解決する方法として、脱落した乳歯や智歯等の抜去歯から採取した幹細胞を凍結保存しておき、将来の治療に利用しようとする『幹細胞バンク』の事業が始まっている。

(2) 非歯原性組織由来 MSC

顎顔面領域を代表する非歯原性の MSC に、顎骨の骨髄に存在する MSC (Bone marrow-derived MSC: BMSC) がある (図2)。口腔インプラント治療に伴

う骨移植術では、口腔領域ではない部位から採取した腸骨よりも、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¹⁴⁾、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。骨組織は、そのほとんどが中胚葉に由来すると考えられていたが、歯原性間葉に由来する歯髄、象牙質や固有歯槽骨だけでなく、顎顔面の骨や、下顎骨の骨化起点となるメッセル軟骨も神経堤の細胞に由来することが明らかにされた⁵⁾。また、顎骨から採取された BMSC は、腸骨から採取された BMSC と比較して増殖能および骨への分化能が高く、脂肪への分化能が低い¹⁵⁾。これらを背景に、顎骨は歯科領域の骨再生医療に有効な幹細胞源と考えられている。

歯肉には、BMSCs と類似した幹細胞 (Gingiva-derived MSC: GMSC) が存在する¹⁶⁾ (図2)。GMSC は BMSC と比較して継代培養を重ねても未分化性を維持しやすい性質を持つ¹⁷⁾。また、口腔粘膜固有層には NCSC に近い性質を有する MSC の存在が確認され¹⁸⁾、その採取の簡便さと高い増殖能から再生医療への応用が期待されている。

骨膜には、骨への分化能を有する幹細胞 (Periosteum-derived stem/progenitor cell: PSC) が存在する¹⁹⁾ (図2)。骨膜は緻密骨表面に存在し、線維層と骨形成層からなる I 型コラーゲンに富む線維性の被膜である。従来、口腔外科領域では経験的に、造成した骨の吸収を防ぐために術野における骨膜の重要性が認識されていた。血管成分に富む骨膜内層は膜性骨化による骨の成長を担っており¹⁹⁾、この内層には骨芽細胞だけでなく、MSC が存在する²⁰⁾。また、PSC は BMSC と比較して高い増殖能を有し、骨、軟骨、脂肪、筋線維へ分化し²⁰⁾、成長因子を添加することで優れた骨形成能を示す²¹⁾。臨床研究では、口腔インプラント治療の骨造成術における PSC の移植は治療期間を短

縮することが報告されている²²⁾。

口腔領域で大切な役割を果たす器官の一つに唾液腺がある。この唾液腺にも、骨、軟骨、脂肪に分化可能な MSC 様の幹細胞が同定されているが²³⁾、唾液腺は採取に侵襲を伴うため、顎骨再生医療の細胞源には適さないであろう。

2) 上皮幹細胞

(1) 歯原性上皮細胞

歯の発生過程の蕾状期において、歯原性上皮細胞は上皮を肥厚させる。この細胞は帽状期にはエナメル髓を囲むように内エナメル上皮と外エナメル上皮へ別れ、エナメル芽細胞へと分化する。歯原性上皮細胞は試験管内で培養することが困難であるため、人為的に不死化した「細胞株」を実験に用いることが多い。これまでに報告された歯原性上皮細胞には、ラット切歯の細胞から樹立したエナメル芽細胞株 HAT-7²⁴⁾、マウスエナメル芽細胞株 LS8 および ALC²⁵⁾、死産胎児より樹立したエナメル芽細胞様細胞等がある²⁶⁾。また、エナメルタンパク質の一つとして知られるアメロプラスチンをラットエナメル芽細胞に強制発現させた SF2-24 株は、共培養により iPS 細胞を歯原性上皮細胞に分化誘導する²⁷⁾。多能性幹細胞から歯原性上皮細胞への分化を特異的に誘導する技術が確立できれば、生体から直接上皮細胞を採取する必要はなくなる。また、歯原性上皮細胞の安定した培養およびエナメル質への分化誘導技術が確立できれば、試験管内で作製したエナメル質を生体材料として臨床応用することも可能になるかもしれない。

(2) 口腔粘膜上皮幹細胞

細胞接着分子インテグリン $\beta 1$ の発現を指標に表皮から上皮細胞を分離培養する技術により²⁸⁾、口腔粘膜の基底層に存在する口腔上皮幹細胞 (Oral epithelial progenitor/stem cell : OESC) が同定された²⁹⁾。OESC はケラチン 14 を特異的に発現する³⁰⁾。補綴歯科領域で期待される口腔上皮幹細胞の用途には、角化歯肉の再生がある。現在、失われた角化付着上皮を獲得する術式には、口蓋から採取した粘膜を用いる遊離歯肉移植があるが、患者に対する侵襲は大きい。これに対して、OESC を用いて作製した人工の口腔粘膜³¹⁾は、患者の負担が少ない再生医療として期待されている³²⁾。

(3) 唾液腺幹細胞

唾液腺は腺房細胞、導管上皮細胞、筋上皮細胞、線維芽細胞等のさまざまな細胞から構成される。内胚葉由来である腺房細胞は唾液を生成して導管に分泌する他、外胚葉由来の導管上皮細胞には唾液中の無機イオ

ンを再吸収する働きがある。唾液には粘膜保護作用、抗菌作用、消化作用などの働きがあり、唾液が減少することで患者の QOL は著しく低下する。特に可撤性義歯使用患者は、口腔乾燥によって粘膜に傷を作りやすく、義歯調整だけでは対処が困難となる症例も少なくない。したがって、唾液腺の再生医療も補綴歯科領域で取り組むべき課題の一つであろう。

唾液腺の発生における分子生物学的な機序には未だ不明な点が多い。これまでに、ラットの唾液腺から、腺房、導管上皮、筋上皮細胞のマーカー分子を発現する幹細胞 (Salivary gland-derived stem cell : SGSC) が報告され³³⁾、続いてマウス顎下腺、ヒト唾液腺³⁴⁾ から同様の幹細胞が分離された。放射線照射により機能を低下させたマウスの顎下腺に SGSC を移植すると、その機能は回復する³⁵⁾。また、Wnt シグナル促進剤を用いることで、唾液腺の導管に存在する幹細胞の分離培養を容易にする技術も報告されており³⁶⁾、今後の唾液腺再生技術の進展が期待される。

2. 口腔領域以外から採取可能な幹細胞

1) NCSC

成体において NCSC は、その数は少ないが、顎顔面部だけでなく四肢骨髄中の MSC の一部など全身性に存在する^{37,38)} (図 1)。神経堤は“第四の胚葉”として注目されており、これに由来する NCSC は自律神経系の神経細胞や神経膠細胞、平滑筋、骨、軟骨、脂肪、メラニン細胞、一部のホルモン産生細胞へと分化が可能である。しかしながら、成体における NCSC と MSC が同一の幹細胞であるか否かの詳細は明らかになっていない。その解析を困難にする一つの要因は、NCSC がその発生由来から定義された細胞であるのに対し、MSC は細胞の性質 (増殖能と骨、軟骨、脂肪への分化能) から定義された細胞であることにあり、また、全身に存在する NCSC はごくわずかであり、その効率的な採取方法の確立が課題となっている。

2) MSC

MSC は、プラスチック培養皿上に付着して増殖する線維芽細胞様の細胞として同定された細胞であり³⁹⁾、骨、軟骨、脂肪の細胞に分化が可能である。MSC は最初に骨髄から分離されたが、その後脂肪、臍帯血、さらには皮膚など成体のさまざまな組織に存在することが明らかとなった (図 1)。MSC はすでに再生医療の現場で応用されているが、プラスチック培養皿上に分離される MSC は雑多な細胞集団であることから、医療施設や患者間において治療効果に相違を生じるという問題があった。そこで 2006 年、

International Society for Cellular Therapy は、プラスチック培養皿上に接着して増殖する細胞で、かつ細胞表面に CD105, CD73, CD90 を発現する細胞をヒト MSC と定義した⁴⁰⁾。その後、MSC を同定するマーカー分子の探索が続き、マウス骨髄から PDGFR α および Sca-1 をマーカーとして MSC を高濃度に濃縮する技術が報告された⁴¹⁾。このようにして得られた MSC は、中胚葉に由来する骨、軟骨、脂肪等の細胞だけでなく、神経堤に由来する神経、グリア、平滑筋等の細胞への分化能を有する⁴²⁾。また、骨髄中には神経堤に由来する MSC が存在し、これら細胞が骨、軟骨、脂肪だけでなく、神経、グリア、平滑筋等の細胞への分化能を示すことが明らかとなった³⁸⁾。

NCSC 様の性質をもつ BMSC が存在することは、歯の再生研究の観点からも興味深い。BMSC を胎仔から採取した口腔上皮に接触させてラット腎皮膜下へ移植すると、歯様の構造物が導かれる⁴³⁾。この結果は、歯への分化能を持たないとされていた成体由来の BMSC が、発生初期の口腔上皮の力を借りて、神経堤に由来する歯原性間葉細胞の役割を果たした可能性を示している。

大腿骨や腸骨に存在する BMSC は、ドナーの年齢が高くなるにつれ骨への分化能が低下する⁴⁴⁻⁴⁶⁾。また、BMSC を長期培養すると分化能の低下や核型の異常を認める場合があるため⁴⁷⁾、これら課題を解決する培養技術の開発が求められている。

一方、脂肪組織にも MSC (Adipose-derived stem cell : ASC) が存在する。ASC は腹部、臀部、四肢や顔面等から吸引採取した脂肪から分離でき、良好な骨への分化能を示すため⁴⁸⁾、歯科領域でも再生医療への応用が期待されている。齧歯類を用いた実験では、ASC の移植が垂直的な骨再生を可能にし⁴⁹⁾、ASC が歯周組織の再生だけでなく抜歯窩における歯の再生にも寄与することが報告されている⁵⁰⁾。

3. 多能性幹細胞

1) 胚性幹細胞 (Embryonic stem cell : ES 細胞)

ES 細胞は、受精卵から胚盤胞へと発生が進んだ過程で生じる内部細胞塊より分離される^{51,52)}。ES 細胞は無限の増殖能と“万能”と称される分化多能性を有することから、再生医療だけでなく発生学においても重要な役割を果たしてきた。歯科領域では、ES 細胞は歯周組織や歯の再生研究に貢献している^{53,54)}。一方、作製に受精卵の破壊を伴う ES 細胞の研究には倫理的問題がついて回る。また、ES 細胞を再生医療に応用する場合、他人由来の細胞を移植することによる免

疫拒絶が懸念される。一方で、ES 細胞には iPS 細胞とは異なり遺伝子操作が行われていないという利点があるため、再生医療への応用を見据えた細胞のバンク化構想がある⁵⁵⁾。実際、京都大学では ES 細胞のバンク化に向け、臨床用ヒト ES 細胞を樹立しストックする計画が始動している。

2) iPS 細胞

2006 年、マウスの線維芽細胞に Oct3/4, Sox2, Klf4 および c-Myc の 4 遺伝子を導入することで、ES 細胞と同様の増殖能と分化能を示す iPS 細胞が発見された²⁾。さらに翌年、ヒトの細胞から iPS 細胞が樹立できることが報告され⁵⁶⁾、ES 細胞に付きまとう倫理的問題と、免疫拒絶の問題を回避できる万能細胞として、その医療応用への期待が高まった。iPS 細胞の材料となる細胞源には、血液、肝臓、胃の細胞や MSC⁵⁷⁾、神経幹細胞を用いることが可能であり、歯科領域では歯肉線維芽細胞、SCAP, DPSC, SHED、歯根膜などさまざまな細胞から iPS 細胞が樹立された⁷⁾。

歯科領域では、iPS 細胞を骨、歯周組織、唾液腺、歯に誘導する試みが行われている。器官原基法⁴⁾を応用した研究では、iPS 細胞から分化誘導した歯原性上皮細胞⁵⁸⁾あるいは歯原性間葉細胞⁵⁹⁾を用いることで、歯胚様の構造体を誘導できることが報告されている。

ただし、iPS 細胞を用いた再生医療の実現にはいくつかの問題がある。一つは iPS 細胞の作製には多大な費用と時間を要する問題である。また、ヒト iPS 細胞では、マウス iPS 細胞の品質評価に用いるキメラ動物の作製ができないことから、どのように品質を標準化するかが課題となっている。これらを解決するため、iPS 細胞をバンク化することにより、治療に必要な時点で標準化された iPS 細胞を供給しようとする計画が進んでいる。また、多能性幹細胞を生体内に移植する場合、細胞集団の中に未分化な iPS 細胞が混入すると、移植先にテラトーマという腫瘍が生じる危険性がある。この問題を解決するためには、iPS 細胞を移植先の組織細胞へと完全に分化誘導する技術、あるいは移植細胞の集団から未分化な iPS 細胞を完全に排除する技術の確立が必要となる。

一方、患者の細胞から作製した iPS 細胞にはその患者の病態や体質が反映される可能性がある。このような観点で作製された iPS 細胞は「疾患特異的 iPS 細胞」として、病態解明や創薬研究への応用が期待されている。補綴歯科領域では、遺伝的要因を有する睡眠時ブラキシズムの患者から iPS 細胞が作製されており³⁾、これを用いた病態解明の研究が進んでいる。

III. まとめ

シリーズ第2回では、補綴歯科領域に応用可能な幹細胞を紹介した。幹細胞にはさまざまな種類があり、再生しようとする組織や器官によって最適な幹細胞を選択する必要がある。したがって、臨床応用の際には各幹細胞の特徴および潜在する問題を熟知しておかなければならない。幹細胞研究がさらに進展すれば、補綴歯科医は顎骨だけでなく、唾液腺や歯そのものを再生医療の対象として扱うようになる可能性がある。また、試験管内で幹細胞から作製した人工エナメル質等を、生体材料として利用できる時代が来るかも知れない。2006年に発見されたiPS細胞は、わずか10年あまりで実際に加齢黄斑変性症の患者に対して臨床応用されている⁶⁰⁾。ひと昔前までは夢と考えられていた治療法も、一つのブレークスルーとなる研究からパラダイムシフトが起こり、現実となる可能性は否定できない。臨床現場のニーズを知る補綴歯科医だからこそ、未知の詰まった幹細胞研究に取り組むことで、新たな治療技術の創生に貢献できるものと期待している。

文 献

- Oshima M, Inoue K, Nakajima K, Tachikawa T, Yamazaki H, Isobe T et al. Functional tooth restoration by next-generation bio-hybrid implant as a bio-hybrid artificial organ replacement therapy. *Sci Rep* 2014; 4: 6044.
- Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006; 126: 663-676.
- Hoashi Y, Okamoto S, Abe Y, Matsumoto T, Tanaka J, Yoshida Y et al. Generation of neural cells using iPSCs from sleep bruxism patients with 5-HT2A polymorphism. *J Prosthodont Res* 2017; 61: 242-250.
- Nakao K, Morita R, Saji Y, Ishida K, Tomita Y, Ogawa M et al. The development of a bioengineered organ germ method. *Nat Methods* 2007; 4: 227-230.
- Chai Y, Jiang X, Ito Y, Bringas P Jr, Han J, Rowitch DH et al. Fate of the mammalian cranial neural crest during tooth and mandibular morphogenesis. *Development* 2000; 127: 1671-1679.
- Niibe K, Zhang M, Nakazawa K, Morikawa S, Nakagawa T, Matsuzaki Y et al. The potential of enriched mesenchymal stem cells with neural crest cell phenotypes as a cell source for regenerative dentistry. *Jpn Dent Sci Rev* 2017; 53(2): 25-33.
- Egusa H, Sonoyama W, Nishimura M, Atsuta I, Akiyama K. Stem cells in dentistry--part I: stem cell sources. *J Prosthodont Res* 2012; 56: 151-165.
- Gronthos S, Brahimi J, Li W, Fisher LW, Cherman N, Boyd A et al. Stem cell properties of human dental pulp stem cells. *J Dent Res* 2002; 81: 531-535.
- Miura M, Gronthos S, Zhao M, Lu B, Fisher LW, Robey PG et al. SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 5807-5812.
- Seo BM, Miura M, Gronthos S, Bartold PM, Batouli S, Brahimi J et al. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet* 2004; 364(9429): 149-155.
- Ikeda E, Yagi K, Kojima M, Yagyu T, Ohshima A, Sobajima S et al. Multipotent cells from the human third molar: feasibility of cell-based therapy for liver disease. *Differentiation* 2008; 76: 495-505.
- Yao S, Pan F, Prpic V, Wise GE. Differentiation of stem cells in the dental follicle. *J Dent Res* 2008; 87: 767-771.
- Sonoyama W, Liu Y, Fang D, Yamaza T, Seo BM, Zhang C et al. Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in swine. *PLoS One* 2006; 1: e79.
- Crespi R, Vinci R, Cappare P, Gherlone E, Romanos GE. Calvarial versus iliac crest for autologous bone graft material for a sinus lift procedure: a histomorphometric study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2007; 22: 527-532.
- Akintoye SO, Lam T, Shi S, Brahimi J, Collins MT, Robey PG. Skeletal site-specific characterization of orofacial and iliac crest human bone marrow stromal cells in same individuals. *Bone* 2006; 38: 758-768.
- Zhang Q, Shi S, Liu Y, Uyanne J, Shi Y, Shi S et al. Mesenchymal stem cells derived from human gingiva are capable of immunomodulatory functions and ameliorate inflammation-related tissue destruction in experimental colitis. *J Immunol* 2009; 183: 7787-7798.
- Tomar GB, Srivastava RK, Gupta N, Barhanpurkar AP, Pote ST, Jhaveri HM et al. Human gingiva-derived mesenchymal stem cells are superior to bone marrow-derived mesenchymal stem cells for cell therapy in regenerative medicine. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 393: 377-383.
- Marynka-Kalmani K, Treves S, Yafee M, Rachima H, Gafni Y, Cohen MA et al. The lamina propria of adult human oral mucosa harbors a novel stem cell population. *Stem Cells* 2010; 28: 984-995.
- Fell HB. The Osteogenic Capacity in vitro of Periosteum and Endosteum Isolated from the Limb Skeleton of Fowl Embryos and Young Chicks. *J Anat* 1932; 66(Pt 2): 157-180. 11.
- De Bari C, Dell'Accio F, Vanlauwe J, Eyckmans J, Khan IM, Archer CW et al. Mesenchymal multipotency of adult human periosteal cells demonstrated by single-cell lineage analysis. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 1209-1221.
- Agata H, Asahina I, Yamazaki Y, Uchida M, Shinohara Y, Honda MJ et al. Effective bone engineering with periosteum-derived cells. *J Dent Res* 2007; 86: 79-83.

- 22) Nagata M, Hoshina H, Li M, Arasawa M, Uematsu K, Ogawa S et al. A clinical study of alveolar bone tissue engineering with cultured autogenous periosteal cells: coordinated activation of bone formation and resorption. *Bone* 2012; 50: 1123-1129.
- 23) Gorjup E, Danner S, Rotter N, Habermann J, Brassat U, Brummendorf TH et al. Glandular tissue from human pancreas and salivary gland yields similar stem cell populations. *Eur J Cell Biol* 2009; 88: 409-421.
- 24) Kawano S, Morotomi T, Toyono T, Nakamura N, Uchida T, Ohishi M et al. Establishment of dental epithelial cell line (HAT-7) and the cell differentiation dependent on Notch signaling pathway. *Connect Tissue Res* 2002; 43(2-3): 409-412.
- 25) Sarkar J, Simanian EJ, Tuggy SY, Bartlett JD, Snead ML, Sugiyama T et al. Comparison of two mouse ameloblast-like cell lines for enamel-specific gene expression. *Front Physiol* 2014; 5: 277.
- 26) Zhang Y, Yan Q, Li W, DenBesten PK. Fluoride down-regulates the expression of matrix metalloproteinase-20 in human fetal tooth ameloblast-lineage cells in vitro. *Eur J Oral Sci* 2006; 114 Suppl 1: 105-110; discussion 27-9, 380.
- 27) Arakaki M, Ishikawa M, Nakamura T, Iwamoto T, Yamada A, Fukumoto E et al. Role of epithelial-stem cell interactions during dental cell differentiation. *J Biol Chem* 2012; 287: 10590-10601.
- 28) Jones PH, Watt FM. Separation of human epidermal stem cells from transit amplifying cells on the basis of differences in integrin function and expression. *Cell* 1993; 73: 713-724.
- 29) Izumi K, Tobita T, Feinberg SE. Isolation of human oral keratinocyte progenitor/stem cells. *J Dent Res* 2007; 86: 341-346.
- 30) Raimondi AR, Molinolo A, Gutkind JS. Rapamycin prevents early onset of tumorigenesis in an oral-specific K-ras and p53 two-hit carcinogenesis model. *Cancer Res* 2009; 69: 4159-4166.
- 31) Izumi K, Feinberg SE, Terashi H, Marcelo CL. Evaluation of transplanted tissue-engineered oral mucosa equivalents in severe combined immunodeficient mice. *Tissue Eng* 2003; 9: 163-174.
- 32) Izumi K, Feinberg SE, Iida A, Yoshizawa M. Intraoral grafting of an ex vivo produced oral mucosa equivalent: a preliminary report. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2003; 32: 188-197.
- 33) Kishi T, Takao T, Fujita K, Taniguchi H. Clonal proliferation of multipotent stem/progenitor cells in the neonatal and adult salivary glands. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 340: 544-552.
- 34) Sato A, Okumura K, Matsumoto S, Hattori K, Hattori S, Shinohara M et al. Isolation, tissue localization, and cellular characterization of progenitors derived from adult human salivary glands. *Cloning Stem Cells* 2007; 9: 191-205.
- 35) Lombaert IM, Brunsting JF, Wierenga PK, Faber H, Stokman MA, Kok T et al. Rescue of salivary gland function after stem cell transplantation in irradiated glands. *PLoS One* 2008; 3(4): e2063.
- 36) Maimets M, Rocchi C, Bron R, Pringle S, Kuipers J, Giepmans BN et al. Long-term in vitro expansion of salivary gland stem cells driven by wnt signals. *Stem Cell Reports* 2016; 6: 150-162.
- 37) Takashima Y, Era T, Nakao K, Kondo S, Kasuga M, Smith AG et al. Neuroepithelial cells supply an initial transient wave of MSC differentiation. *Cell* 2007; 129: 1377-1388.
- 38) Morikawa S, Mabuchi Y, Niibe K, Suzuki S, Nagoshi N, Sunabori T et al. Development of mesenchymal stem cells partially originate from the neural crest. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 379: 1114-1119.
- 39) Friedenstein AJ, Chailakhjan RK, Lalykina KS. The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells. *Cell Tissue Kinet* 1970; 3: 393-403.
- 40) Horwitz EM, Le Blanc K, Dominici M, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini FC et al. Clarification of the nomenclature for MSC: The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 2005; 7: 393-395.
- 41) Morikawa S, Mabuchi Y, Kubota Y, Nagai Y, Niibe K, Hiratsu E et al. Prospective identification, isolation, and systemic transplantation of multipotent mesenchymal stem cells in murine bone marrow. *J Exp Med* 2009; 206: 2483-2496.
- 42) Niibe K, Morikawa S, Mabuchi Y, Araki D, Nakagawa T, Okano H et al. Mesp1+ early paraxial mesodermal cells supply initial bone marrow mesenchymal stem cells capable of differentiating into neural crest lineage cells. *Inflammation and Regeneration* 2011; 31: 116-124.
- 43) Modino SA, Sharpe PT. Tissue engineering of teeth using adult stem cells. *Arch Oral Biol* 2005; 50: 255-258.
- 44) Mendes SC, Tibbe JM, Veenhof M, Bakker K, Both S, Platenburg PP et al. Bone tissue-engineered implants using human bone marrow stromal cells: effect of culture conditions and donor age. *Tissue Eng* 2002; 8: 911-920.
- 45) Nishida S, Endo N, Yamagiwa H, Tanizawa T, Takahashi HE. Number of osteoprogenitor cells in human bone marrow markedly decreases after skeletal maturation. *J Bone Miner Metab* 1999; 17: 171-177.
- 46) Mueller SM, Glowacki J. Age-related decline in the osteogenic potential of human bone marrow cells cultured in three-dimensional collagen sponges. *J Cell Biochem* 2001; 82: 583-590.
- 47) Derubeis AR, Cancedda R. Bone marrow stromal cells (BMSCs) in bone engineering: limitations and recent advances. *Ann Biomed Eng* 2004; 32: 160-165.
- 48) Kern S, Eichler H, Stoeve J, Kluter H, Bieback K. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue.

- Stem Cells 2006; 24: 1294-1301.
- 49) Pieri F, Lucarelli E, Corinaldesi G, Aldini NN, Fini M, Parrilli A et al. Dose-dependent effect of adipose-derived adult stem cells on vertical bone regeneration in rabbit calvarium. *Biomaterials* 2010; 31: 3527-3535.
- 50) Hung CN, Mar K, Chang HC, Chiang YL, Hu HY, Lai CC et al. A comparison between adipose tissue and dental pulp as sources of MSCs for tooth regeneration. *Biomaterials* 2011; 32: 6995-7005.
- 51) Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature* 1981; 292(5819): 154-156.
- 52) Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998; 282(5391): 1145-1147.
- 53) Inanc B, Elcin AE, Elcin YM. In vitro differentiation and attachment of human embryonic stem cells on periodontal tooth root surfaces. *Tissue Eng Part A* 2009; 15(11): 3427-3435.
- 54) Ning F, Guo Y, Tang J, Zhou J, Zhang H, Lu W et al. Differentiation of mouse embryonic stem cells into dental epithelial-like cells induced by ameloblasts serum-free conditioned medium. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 394: 342-347.
- 55) Wobus AM, Boheler KR. Embryonic stem cells: prospects for developmental biology and cell therapy. *Physiol Rev* 2005; 85: 635-678.
- 56) Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 2007; 131: 861-872.
- 57) Niibe K, Kawamura Y, Araki D, Morikawa S, Miura K, Suzuki S et al. Purified mesenchymal stem cells are an efficient source for iPS cell induction. *PLoS One* 2011; 6(3): e17610.
- 58) Liu P, Zhang Y, Chen S, Cai J, Pei D. Application of iPS cells in dental bioengineering and beyond. *Stem Cell Rev* 2014; 10: 663-670.
- 59) Otsu K, Kumakami-Sakano M, Fujiwara N, Kikuchi K, Keller L, Lesot H et al. Stem cell sources for tooth regeneration: current status and future prospects. *Front Physiol* 2014; 5: 36.
- 60) Mandai M, Kurimoto Y, Takahashi M. Autologous Induced Stem-Cell-Derived Retinal Cells for Macular Degeneration. *N Engl J Med* 2017; 377: 792-793.

著者連絡先：新部邦透

〒980-8575 宮城県仙台市青葉区星陵町4-1
東北大学大学院歯学研究科
分子・再生歯科補綴学分野
Tel: 022-717-8363
Fax: 022-717-8367
E-mail: kunimichi.niibe.d4@tohoku.ac.jp

