

京都大学	博士（医 学）	氏 名	吉 川 勝 宇
論文題目	Multipotent stem cells are effectively collected from adult human cheek skin （ヒト高齢者でも顔面皮膚から多能性幹細胞を効率的に採取できる）		
（論文内容の要旨）			
近年、ES 細胞や iPS 細胞のような万能細胞以外にも、各臓器や組織中に多能性の幹細胞が存在することが報告されている。ES 細胞や iPS 細胞は、臨床応用にはまだ多くの障壁があるのに対し、自家組織から比較的容易に採取できる組織幹細胞は、臨床応用への近道である可能性が高い。ヒト皮膚(真皮)にも、Skin derived Precursor cells（SKP 細胞）と呼ばれる多能性の幹細胞が存在し、神経細胞や骨細胞などへの分化能を持つことが知られている。皮膚は体表に存在し採取が非常に容易であり、組織工学や再生医療の貴重な資源といえる。しかしながら、通常、幹細胞は組織中にわずかしかな存在しないことから、体のどの部位の皮膚から SKP 細胞が効率よく採取できるかに着目して検討を行った。 38 例の皮膚検体から SKP 細胞を無血清培養により分離・培養し、メチルセルロース含有培地によるコロニーアッセイを行った。その結果、成人において、顔面皮膚から得られる SKP 細胞の数は、体幹または四肢の皮膚に比べて有意に多いということを見出した。これまでの研究では、他の部位の皮膚を用いて、幹細胞数が年齢とともに減少することが報告されていたが、顔面皮膚からは 70 ～78 才の高齢者であっても、小児と同等の効率で、多数の SKP 細胞が採取できることがわかった。 次に、SKP 細胞の採取部位による分化能の差異を解析するため、骨、脂肪、への分化実験を行った。脂肪細胞への分化誘導に関して、オイルレッド O 染色とトリグリセリドの定量実験を行い、骨細胞への分化誘導についてはアルカリフォスファターゼの染色と定量実験を行った。その結果、頬および顎の皮膚由来の SKP 細胞は眼瞼、体幹、または四肢の皮膚由来のものと比較して骨、脂肪細胞に分化する高い能力を示した。頬皮膚由来の SKP 細胞は、高齢者のものであっても、神経系および中胚葉系統に分化する多分化能を有していた。 さらに、頬および顎から採取された SKP 細胞と、他の部位から採取された SKP 細胞との間で、SKP 細胞に特異的なマーカー分子の発現に差異があるかを検証した。まず、nestin、fibronectin、NGF receptor P75、vimentin、versican の発現について免疫蛍光染色を行った。その結果、いずれの部位から採取された SKP 細胞もマーカー蛋白を発現し、差異が認められなかった。Wnt-5a、Twist、Sox9、Sca-1、Dermo-1 の発現については、RT-PCR による解析を行った。その結果、いずれのマーカー遺伝子も発現が認められたが、Sox9 については、頬および顎由来の SKP 細胞において、他の部位由来のものより高い発現を示した。Sox9 は、発生過程において、神経堤細胞の上皮-間葉転換期に重要な役割を担い、未分化多能性細胞のマーカーとして知られている。Sox9 がより高い発現を示すことから、頬および顎の SKP 細胞は、神経堤細胞に類似した未分化状態（多分化能）を維持していることが示唆された。よって、頬および顎の SKP 細胞は、他の部位の SKP 細胞よりも未分化な状態であると推定される。皮膚では毛包内に、神経堤細胞に類似した多能性細胞が存在することが報告されている。			

よって、頬および顎の皮膚から多数の SKP 細胞が採取できるのは、他の部位と比較して毛包が多いためである可能性が高い。 以上より、頬および顎の皮膚組織には未分化高品質な SKP 細胞が多く存在し、組織工学と再生医療のための多能性幹細胞のソースとして有用であると考えられる。 (論文審査の結果の要旨) ES 細胞や iPS 細胞のような万能細胞以外にも、組織中に多能性の幹細胞が存在する。ヒト真皮にも、Skin derived Precursor cells (SKP 細胞) と呼ばれる多能性の細胞が存在することが知られている。自家組織から比較的容易に採取でき、臨床応用への近道である可能性が高いが、幹細胞は組織中にわずかしかな存在しないことから、どの部位の皮膚から SKP 細胞が効率よく採取できるかに着目して検討を行った。 ヒト皮膚検体から SKP 細胞を培養し、コロニーアッセイを行った。その結果、顔面皮膚から得られる SKP 細胞の数は、体幹または四肢の皮膚に比べて有意に多いということを見出した。 次に、分化能の差異の解析のため、骨、脂肪への分化・定量実験を行った。その結果、頬・顎の皮膚由来のものは眼瞼、体幹、または四肢の皮膚由来のものと比較して高い分化能力を示した。 さらに、SKP 細胞に特異的なマーカー分子の発現の差異を検証したところ、神経堤細胞の上皮-間葉転換期に重要な役割を担い、未分化多能性細胞のマーカーとして知られている Sox9 が頬・顎由来のものにおいて、他の部位由来のものより高い発現を示した。頬・顎の SKP 細胞は、神経堤細胞に類似した未分化状態を維持していることが示唆された。 以上の研究は、SKP 細胞の効率的な採取方法の解明に貢献し、自家組織から得られる幹細胞を用いた再生医療の実現に寄与するところが多い。 したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。 なお、本学位授与申請者は、平成 2 5 年 2 月 2 2 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			