

-大学院歯学独立研究科-

第 104 回 中間発表会 プログラム
第 86 回 大学院研究科発表会 プログラム

大学院学生等が、これまでの研究成果を発表します。
どなたでも聴講できますので、多数の参加をお待ちしております (聴講申込不要)

場 所：実習館 2 階 総合歯科医学研究所セミナー室

日 時：2019 年 10 月 30 日 (水) 17 時 25 分 開会

-2019 年 10 月 30 日 (水) -

No.	発表区分・予定時間	演題名・発表者	審査委員
	17:25	開会挨拶 高橋研究科長	
1	[中間発表] 17:30~18:00 司会:吉成 教授	「骨形成制御因子であるスクレロスチンを欠損させたマウスにおける BMP 誘導性の異所性骨の解析」 中村 圭吾 3 年 健康増進口腔科学講座 口腔健康分析学	主査:中村浩教授 副査:各務教授 :田口教授
2	[中間発表] 18:00~18:30 司会:各務 教授	「マウス皮質骨由来幹細胞によるスフェロイドの凍結保存法の検討」 董 宏偉 3 年 硬組織疾患制御再建学講座 硬組織発生・再生工学	主査:平賀教授 副査:大須賀教授 :中道講師
3	[大学院発表] 18:30~19:00 司会:各務 教授	「口腔粘膜由来細胞から形成された自発的スフェロイドの特性評価と皮膚由来細胞によるスフェロイドとの比較」 李 妮 3 年 硬組織疾患制御再建学講座 硬組織発生・再生工学	主査:平賀教授 副査:川原教授 :小出講師
4	[大学院発表] 19:00~19:30 司会:各務 教授	「マウス緻密骨由来細胞から形成された自発的スフェロイドは高い分化能を持つ優れた幹細胞を有する」 陳 凱 3 年 硬組織疾患制御再建学講座 硬組織発生・再生工学	主査:小林教授 副査:正村准教授 :上原講師

Graduate School Research Meeting Presentation

中間発表会申込書(課程博士) Application Form for Midterm Meeting (For the Doctoral Course)

		申込日	年	月	日		
		Year	Year	Month	Day		
学籍番号 Student ID No. (ふりがな)	ID# G1706	入学年 Entrance Year	2017	年	Year		
氏名 Name in Full	なかむら けいご ⑩						
専攻分野 Major Field	口腔健康分析学						
主指導教員 Chief Academic Advisor	職名: 教授 Position	氏名: 吉成 伸夫 Name	⑩				
副指導教員 Vice Academic Advisor	職名: 教授 Position	氏名: 宇田川 信之 Name					
	職名: 講師 Position	氏名: 小出 雅則 Name					
	職名: Position	氏名: Name					
	職名: Position	氏名: Name					
演題名 Title of Presentation (題名が英文の場合、和文も記入)	骨形成抑制因子であるスクロスチンを欠損させたマウスにおける BMP 誘導性の異所性骨の解析						
公表(予定) 学術雑誌名 Journal where published	雑誌名: Journal						
	卷 Vol.	号 No.	~	頁 Page			
	年 Year	月 Month	公表・印刷中・投稿中・予定 Publication / In print / Submitted / Other				
著者名 Author's Name							
発表希望年月日 Date of Publication	第1希望日 Date of the 1st choice	2019	年 Year	10	月 Month	30	日 Day
	第2希望日 Date of the 2nd choice		年 Year		月 Month		日 Day
	その他希望日 Date of the other choice		年 Year		月 Month		日 Day
連絡先 Contact Address	長野県塩尻市広丘郷原 1780 松本歯科大学歯科保存学講座						
	TEL:	0263 (51) 2026		携帯: Cellular phone	090 (5120) 1668		
※以下記入不要 / For official use only							
中間審査委員	主査	職名:	氏名:				
	副査	職名:	氏名:				
		職名:	氏名:				
		職名:	氏名:				
		職名:	氏名:				
備考							

発表内容の要旨 (課程博士)

Abstract of Presented Research (For the Doctoral Course)

学籍番号 Student ID No.	ID#G 1706	入学年 Entrance Year	2017	年 Year
(ふりがな)	なかむら		けいご	
氏名 Name in Full	中村		圭吾	
専攻分野 Major Field	口腔健康分析学			
主指導教員 Chief Academic Advisor	吉成 伸夫			
発表会区分 Type of Meeting	中間発表会・大学院研究科発表会・松本歯科大学学会 Midterm Meeting / Graduate school research meeting presentation / The Matsumoto Dental University Society			
演題名 / Title of Presentation	骨形成抑制因子であるスクレロスチンを欠損させたマウスにおける BMP 誘導性の異所性骨の解析			
発表要旨 / Abstract	<p>【目的】 歯周炎は進行に伴い歯槽骨が吸収し、歯の喪失につながる疾患である。しかし現在の歯科治療では、高度に吸収された骨を完全に回復することは困難であり、歯槽骨再生治療の発展が期待されている。 骨細胞から分泌されるスクレロスチンは、Wnt/β catenin シグナルを阻害し骨形成を阻害するタンパク質である。スクレロスチンをコードする SOST 遺伝子の喪失は頭蓋骨における骨の過形成を特徴とする硬結性骨硬化症を引き起こす。同様に、Sost 遺伝子欠損マウスでは頭蓋骨や長管骨で骨量が増加することが報告されている。本研究では、スクレロスチン欠損マウスにおいて Bone Morphogenetic Protein (BMP) 誘導性の異所性骨の骨形成量や骨密度が増加するかを検討し、骨再生におけるスクレロスチンの発現と働きを解明することを目的とした。</p> <p>【方法】 スクレロスチン欠損マウスとして Sost-Green ホモマウス (Sost G/G)、Sost-Green ヘテロマウス (Sost G/+)、対照として C57BL6 マウス (WT) を使用した。カラーゲンペレットを BMP-2 に浸漬し、8 週齢雄のマウスの大腿部内側に BMP ペレットを埋入した。その後、14、28 日経ったのち BMP により誘導された異所性骨と大腿骨および脛骨を採取した。各群は 7 匹とした。採取した異所性骨と大腿骨をマイクロ CT で形態、骨形成量 (BV/TV)、骨密度 (BMD) を解析したのち凍結切片を作成し、組織学的解析として Sost-Gree による蛍光の発現を観察した。また、スクレロスチンの免疫染色を行った。</p> <p>【結果】 WT の異所性骨では抗スクレロスチン抗体染色でスクレロスチン陽性の骨細胞を認めたが、蛍光観察において Green 陽性の骨細胞は認めなかった。Sost G/+ の異所性骨では蛍光観察において、Green 陽性の骨細胞を認めた。Sost G/G の異所性骨では抗スクレロスチン抗体染色でスクレロスチン陽性の骨細胞を認めなかったが、蛍光観察において Green 陽性の骨細胞を認めた。これらの結果より、Sost G/G ではスクレロスチンのタンパク質発現が欠失していることが確認された。 埋入後 14 日の異所性骨では、WT と比較して Sost G/G の異所性骨の大きさや湿重量は同程度であった (WT = 16.4 mg, SG/G = 18.5 mg)。マイクロ CT において、BMP ペレットを取り囲む外殻に多孔質な石灰化像を認め、Sost G/G の外殻は厚いことが観察された。WT と比較して Sost G/G の異所性骨の BV/TV (WT = 4.59%, SG/G = 9.04%) と BMD (WT = 468 mg/cm³, SG/G = 602 mg/cm³) は有意に増加した。 埋入後 28 日の異所性骨では、WT と比較して Sost G/G の異所性骨の大きさや湿重量は同程度 (WT = 11.7 mg, SG/G = 10.0 mg) であった。マイクロ CT において、BMP ペレットを取り囲む外殻に層板様構造の石灰化像を認め、Sost G/G の外殻は厚いことが観察された。WT と比較して Sost G/G の異所性骨の BV/TV は有意に増加した (WT = 5.27%, SG/G = 9.58%)。同様に、BMD は増加傾向を示した。(WT = 763 mg/cm³, SG/G = 943 mg/cm³)。</p> <p>【結論】 BMP 誘導性の異所性骨では埋入後 14、28 日で Sost-Green によるスクレロスチン遺伝子の発現を認めた。スクレロスチン欠損マウスにおいて、異所性骨の骨形成量や骨密度は埋入後 14 日および 28 日で増加した。異所性骨において、スクレロスチンは過剰な骨形成を防いでいる可能性が示された。</p>			

Graduate School Research Meeting Presentation

中間発表会申込書(課程博士) Application Form for Midterm Meeting (For the Doctoral Course)

申込日 2019 年 9 月 10 日
Year Month Day

学籍番号 Student ID No. (ふりがな)	ID# G 1712	入学年 Entrance Year	2017 年
氏名 Name in Full	董 宏偉	(印)	
専攻分野 Major Field	硬組織発生・再生工学		
主指導教員 Chief Academic Advisor	職名: 教授 Position	氏名: 各務 秀明 Name	(印)
副指導教員 Vice Academic Advisor	職名: 教授 Position	氏名: 芳澤 享子 Name	
	職名: 教授 Position	氏名: 長谷川 博雅 Name	
	職名: Position	氏名: Name	
	職名: Position	氏名: Name	
	職名: Position	氏名: Name	
演題名 Title of Presentation (題名が英文の場合、和文も記入)	マウス皮質骨由来幹細胞によるスフェロイドの凍結保存法の検討		
公表(予定) 学術雑誌名 Journal where published	雑誌名: Journal		
	卷 Vol.	号 No.	頁 Page
	年 Year	月 Month	公表・印刷中・投稿中・予定 Publication / In print / Submitted / Other
著者名 Author's Name			
発表希望年月日 Date of Publication	第1希望日 Date of the 1st choice	2019 年 10 月 30 日 Year Month Day	
	第2希望日 Date of the 2nd choice	年 月 日 Year Month Day	
	その他希望日 Date of the other choice	年 月 日 Year Month Day	※要相談
連絡先 Contact Address	口腔外科		
	TEL: (内線) 2066	携帯: Cellular phone	()
※以下記入不要 / For official use only			
中間審査委員	主査	職名:	氏名:
	副査	職名:	氏名:
		職名:	氏名:
		職名:	氏名:
		職名:	氏名:
		職名:	氏名:
備考			

発表内容の要旨 (課程博士)

Abstract of Presented Research (For the Doctoral Course)

学籍番号 Student ID No.	ID#G 1712	入学年 Entrance Year	2017	年 Year
(ふりがな)				
氏名 Name in Full	董 宏偉			
専攻分野 Major Field	硬組織発生・再生工学			
主指導教員 Chief Academic Advisor	各務 秀明			
発表会区分 Type of Meeting	中間発表会 ・ 大学院研究科発表会 ・ 松本歯科大学学会 Midterm Meeting / Graduate school research meeting presentation / The Matsumoto Dental University Society			
演題名 / Title of Presentation				
マウス皮質骨由来幹細胞によるスフェロイドの凍結保存法の検討				
発表要旨 / Abstract				
<p>目的：浮遊状態で細胞塊を形成するスフェロイド培養法は、従来のシャーレ上で行う平面培養と比較して優れた幹細胞の選択的培養法であることが知られている。また、われわれのグループでは、特殊な低接着性プレートを用いることで、効率的に高い幹細胞性を有する自発的スフェロイドの形成を行う方法を開発し、報告してきた。これら細胞を再生医療に応用するためには凍結保存方法の確立が必須であるが、これまでスフェロイドの凍結保存方法については十分な検討が行われていなかった。凍結保存では、凍結保護剤の種類や浸漬時間、凍結速度などさまざまな条件によって生存率が変化する。特にスフェロイドでは細胞塊を形成しているため、通常の培養細胞と比較して、凍結保護剤の浸透条件には差があることが予測される。マウス皮質骨由来細胞(CBDCs)から形成された自発的スフェロイドは、優れた幹細胞性や、高い骨・神経系細胞への分化能を有する。本研究では、この CBDCs から形成されたスフェロイドを用いて、スフェロイドに適した凍結保存法と、凍結解凍が細胞機能へ与える影響について検討する。</p> <p>材料と方法：雄3週令 C57BL/6J マウス脛骨および大腿骨を取り出した後に細切し、コラゲナーゼにて処理を行った。得られた細胞を α-MEM に 10%牛胎児血清と bFGF を加えた基礎培地にて平面培養を行い、CBDCs を得た。2 継代目の細胞を低接着性シャーレに播種することで、自発的スフェロイドを得た。24 時間後にスフェロイドを回収し、5, 10, 15, 20% のジメチルスルホキシド (DMSO) とともに緩徐凍結法にて -80°C まで冷却し、その後液体窒素中で保管した。解凍後、CCK-8 および CK-17 (いずれも同仁化学研究所) を用いて、生存細胞数と細胞障害の程度を測定した。次に凍結保護剤による凍結前 (非凍結群) と凍結解凍後のスフェロイド由来細胞 (凍結群) の幹細胞マーカーの発現を検討した。また、7 日間骨分化誘導培地にて培養後、骨分化能を検討した。凍結解凍後のスフェロイドを β-TCP ブロック (オスフェリオン, オリパステルモバイオマテリアルス) へ播種し、SCID マウスの背部皮下へ埋入した。4 週後に摘出し、μCT にて撮影後、脱灰、包埋、薄切し、組織学的検討を行った。</p> <p>結果：解凍後の細胞生存は DMSO5% の群で最も高く、細胞障害の程度もこの群が最も低かった。この条件で凍結したスフェロイドについて、幹細胞のマーカーである CD29、CD14、CD105、Sca1、KLF4 の発現を比較したところ、凍結前と凍結解凍後で有意差は認められなかった。次に非凍結群と凍結群の骨分化能を検討した。非凍結群と凍結群の ALP 活性はそれぞれ 0.58 ± 0.11 と 0.66 ± 0.19 で、有意差は認められなかった。また、骨分化マーカーである BSP、Osterix、DMP1 の発現も非凍結群と凍結群の間にも有意差は認められなかった。凍結群のスフェロイドを SCID マウスへ移植後 4 週のサンプルを解析したところ、μCT 画像、およびヘマトキシリンエオジン骨組織の再生が認められた。</p> <p>結論：CBDCs によるスフェロイドを作製し、スフェロイド状態での凍結保存の条件と解凍後の細胞の機能について検討を行った。適切な条件を選択することで、凍結解凍後も一定の生存率が得られた。凍結解凍後も細胞の幹細胞性、骨分化能は維持されており、凍結保存を行っていない細胞と同等と考えられた。今後凍結保存されたスフェロイドの <i>in vivo</i> における骨再生能について、さらに検討を行っていく予定である。</p>				

Graduate School Research Meeting Presentation

大学院研究科発表会申込書(課程博士)

Application Form for Graduate School Research Meeting Presentation (For the Doctoral Course)

申込日 2019 年 9 月 2 日
Year Month Day

学籍番号 Student ID No.	ID# G1711	入学年 Entrance Year	2017 年
氏名 Name in Full	李 妮 ㊟		
専攻分野 Major Field	硬組織発生・再生工学		
主指導教員 Chief Academic Advisor	職名: 教授	氏名: 各務 秀明	㊟
副指導教員 Vice Academic Advisor	職名: 教授	氏名: 芳澤 享子	
	職名: 教授	氏名: 宇田川 信之	
	職名:	氏名:	
	職名:	氏名:	
	職名:	氏名:	
演題名 Title of Presentation (題名が英文の場合、和文も記入)	Characterization of spontaneous spheroids from oral mucosa-derived cells and their direct comparison with spheroids from skin-derived cells/口腔粘膜由来細胞から形成された自発的スフェロイドの特性評価と皮膚由来細胞によるスフェロイドとの比較		
公表(予定) 学術雑誌名 Journal where published	雑誌名: Journal	Stem Cell Research & Therapy	
		2019 Jun 24;10(1):184. doi: 10.1186/s13287-019-1283-0	
	2019 年 6 月	公表	Published
著者名 Author's Name	李妮 李憲起 陳凱 董宏偉 各務 秀明		
発表会名及び 発表希望年月日 Date of Publication	大学院研究科発表会 ・ 松本歯科大学学会 Graduate school research meeting presentation / The Matsumoto Dental University Society		
	第1希望日 Date of the 1st choice	2019 年 10 月 30 日	
	第2希望日 Date of the 2nd choice	年 月 日	
	その他希望日 Date of the other choice	年 月 日	※要相談
連絡先 Contact Address	李 妮 TEL: () 携帯: 080 (7880) 9305 Cellular phone		
※以下記入不要 / For official use only			
研究発表 審査委員	主査	職名:	氏名:
	副査	職名:	氏名:
		職名:	氏名:
		職名:	氏名:
		職名:	氏名:
備考			

発表内容の要旨(課程博士)

Abstract of Presented Research (For the Doctoral Course)

学籍番号 Student ID No.	ID#G 1711	入学年 Entrance Year	2017 年 Year
(ふりがな)			
氏名 Name in Full	李 妮		
専攻分野 Major Field	硬組織発生・再生工学		
主指導教員 Chief Academic Advisor	各務 秀明		
発表会区分 Type of Meeting	中間発表会 ・ 大学院研究科発表会 ・ 松本歯科大学学会 Midterm Meeting / Graduate school research meeting presentation /The Matsumoto Dental University Society		
演題名 / Title of Presentation			
Characterization of spontaneous spheroids from oral mucosa-derived cells and their difference between spheroids from skin-derived cells/口腔粘膜由来細胞から形成された自発的スフェロイドの特性評価と皮膚由来細胞によるスフェロイドとの比較			
発表要旨 / Abstract			
<p>Background: Our group has developed a novel method for spontaneous spheroid formation using a specific low-adherence culture plate with around 90-degree water contact angle. In this study, this method was applied for oral mucosa-derived cells. First, the feasibility of spontaneous spheroid formation was tested. Next, the characteristics of spontaneous spheroids from oral mucosa- and skin-derived cells were compared with special focus on stemness and neuronal differentiation capability.</p> <p>Methods: Oral mucosal cells, skin cells and compact bone cells were obtained from C57BL/6J mice. Passage 2-3 cells were inoculated into the specific low-adherence culture plates to form spontaneous spheroids. The effect of basic fibroblast growth factor (bFGF), epidermal growth factor (EGF) and B27 supplement on spheroid formation and maintenance was assessed. Immunofluorescence and quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (qRT-PCR) were performed to investigate the expression of pluripotency markers, cell proliferation and apoptosis markers and neurogenic differentiation markers.</p> <p>Results and Discussion: Using this culture plate, spontaneous spheroid formation was feasible. This process depended on the presence of serum but was independent of the additives such as bFGF, EGF and B27 supplement, although they improved the efficiency and were essential for spheroid maintenance. The spheroids from oral mucosa-derived cells expressed stem cell markers, such as Sox2, SSEA1, Oct4, Nanog, and neural stem cell markers such as Nestin. The expressions of Sox2, fucosyltransferase 4/FUT4 (SSEA1), and Nestin were relatively higher under the presence of those additives. The expression of Sox2 in the spheroids from oral mucosal cells was higher than that in spheroids from skin-derived cells, which was not affected by the presence of those additives. Both spheroid-forming cell types had the ability to differentiate into neural and Schwann cells after neurogenic induction, although significantly higher MAP2, MBP, Nestin and Nurr1 gene expression was noted in the cells from oral mucosa-derived spheroids. The expression of MAP 2, MBP, and Nestin in the oral mucosal spheroid-derived cells were exceedingly higher than those in the spheroid-forming cells from compact bone-derived mesenchymal stem cells. Despite our expectation, the expression levels of most of the tested stem cell markers were identical except for Sox2. Sox2 is localized in these neural crest-like cells, and the cells are a possible source of spheroid-forming cells. The higher expression of Sox2 in spheroids from oral mucosa-derived cells might be a reflection of their abundance in oral mucosa.</p> <p>Conclusions: The results showed that spontaneous spheroids from oral mucosa-derived cells contain highly potent stem cells, which were as good as skin-derived stem cells. The high expression of certain neuronal marker genes suggests an advantage of these cells for regeneration therapy for neuronal disorders.</p>			

Graduate School Research Meeting Presentation

大学院研究科発表会申込書(課程博士)

Application Form for Graduate School Research Meeting Presentation (For the Doctoral Course)

申込日 2019 年 9 月 2 日
Year Month Day

学籍番号 Student ID No.	ID# G1710	入学年 Entrance Year	2017 年		
氏名 Name in Full	陳凱 ㊟				
専攻分野 Major Field	硬組織発生・再生工学				
主指導教員 Chief Academic Advisor	職名: 教授	氏名: 各務 秀明	㊟		
副指導教員 Vice Academic Advisor	職名: 教授	氏名: 芳澤 享子			
	職名: 教授	氏名: 田口 明			
	職名:	氏名:			
	職名:	氏名:			
	職名:	氏名:			
演題名 Title of Presentation (題名が英文の場合、和文も記入)	Spontaneously formed spheroids from mouse compact bone-derived cells retain highly potent stem cells with enhanced differentiation capability/マウス緻密骨由来細胞から形成された自発的スフェロイドは高い分化能を持つ優れた幹細胞を有する				
公表(予定) 学術雑誌名 Journal where published	雑誌名: Stem Cells International (Article ID 8469012)				
	2019 May 5;2019:8469012. doi: 10.1155/2019/8469012				
	2019 年 5 月	<input checked="" type="checkbox"/> 公表	Published		
著者名 Author's Name	陳凱 李憲起 李妮 董宏偉 張以鳴 芳澤 享子 各務 秀明				
発表会名及び 発表希望年月日 Date of Publication	<input checked="" type="checkbox"/> 大学院研究科発表会 ・ 松本歯科大学学会 Graduate school research meeting presentation / The Matsumoto Dental University Society				
	第1希望日 Date of the 1st choice	2019	年	10	月 30 日
	第2希望日 Date of the 2nd choice		年		月 日
	その他希望日 Date of the other choice		年		月 日 ※要相談
連絡先 Contact Address	陳凱 TEL: 0263 (51) 2076 携帯: () Cellular phone				
※以下記入不要 / For official use only					
研究発表 審査委員	主査	職名:	氏名:		
	副査	職名:	氏名:		
		職名:	氏名:		
		職名:	氏名:		
		職名:	氏名:		
		職名:	氏名:		
備考					

発表内容の要旨(課程博士)

Abstract of Presented Research (For the Doctoral Course)

学籍番号 Student ID No.	ID#G 1710	入学年 Entrance Year	2017 年 Year
(ふりがな)			
氏名 Name in Full	陳 凱		
専攻分野 Major Field	硬組織発生・再生工学		
主指導教員 Chief Academic Advisor	各務 秀明		
発表会区分 Type of Meeting	中間発表会 ・ 大学院研究科発表会 ・ 松本歯科大学学会 Midterm Meeting / Graduate school research meeting presentation / The Matsumoto Dental University Society		
演題名 / Title of Presentation			
Spontaneously formed spheroids from mouse compact bone-derived cells retain highly potent stem cells with enhanced differentiation capability / マウス緻密骨由来細胞から形成された自発的スフェロイドは高い分化能を持つ優れた幹細胞を有する			
発表要旨 / Abstract			
<p>Objectives: Spheroid culture has been reported beneficial for tissue engineering and cell therapy, since it is regarded as more physiological and may better preserve the characteristics of stem cells than conventional two-dimensional culture. Although compact bone-derived cells (CBDCs) have been reported as an abundant cell source for mesenchymal stem cells, the character of spheroids from CBDCs is not well known. The results from our recent study showed the presence of two distinct spheroid-forming mechanisms, i.e. spontaneous and mechanical. In this study, we focused on the spontaneously formed spheroids and the character of spontaneously formed spheroids from mouse CBDCs was explored.</p> <p>Materials and Methods: CBDCs were isolated from mouse (C57BL/J) leg cortical bone after dissection and collagenase treatment. The cells were cultured on a conventional dish and the cells at passage 2 or 3 were used for the following experiments. Spontaneous spheroid formation was achieved on a low adherent culture plate, which can achieve spontaneous spheroid formation. The expression levels of embryonic stem cell markers and mesenchymal stem cell markers were analyzed using immunofluorescence and quantitative reverse transcription polymerase chain reaction. Then, the cells from spheroids were induced into osteogenic and neurogenic lineages.</p> <p>Results and Discussion: The spontaneously formed spheroids from CBDCs were positive for ES cell markers such as SSEA1, Sox2, Oct4, and Nanog. Additionally, the expressions of fucosyltransferase 4/FUT4 (SSEA1), Sox2, and Nanog were significantly higher than those in monolayer cultured cells. The gene expression of mesenchymal stem cell markers was almost identical in both spheroids and monolayer-cultured cells, but the expression of Sca-1 was higher in spheroids. After osteogenic induction, ALP activity of induced spheroid-derived cells was significantly higher than that of induced monolayer cultured cells. The relative expression levels of osterix, BSP and DMP1 in spheroid-derived cells was significantly higher than those in monolayer cultured cells. After 2 weeks of neurogenic induction, the spheroid-derived cells showed a significantly higher Nestin, MAP2, NGRF and NeuroD expression than those in induced monolayer cells. Immunofluorescent images showed that the expression of nestin and βIII-tubulin was observed with neuronal cell-like morphology only in spheroid-derived cells. In contrast, monolayer-cultured cells showed no positive staining for either Nestin or βIII-tubulin. . These results show the potential usefulness of spheroid-forming cells from CBDCs for future clinical applications in bone tissue engineering. The results from neurogenic differentiation also support a potential of future usage of spheroid-forming cells from CBDCs for neurodegenerative disorders.</p> <p>Conclusion: Spontaneously formed spheroids expressed stem cell markers and showed enhanced osteogenic and neurogenic differentiation capabilities than cells from the conventional monolayer culture, which supports the superior stemness.</p>			