

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2023

課題番号：17K11903

研究課題名(和文) 新たな凍結保存歯移植法の開発 骨髄間葉系幹細胞培養上清を応用する

研究課題名(英文) Development of a New Cryopreserved Tooth Transplantation Method - Application of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell Culture Supernatant

研究代表者

新美 奏恵 (Niimi, Kanae)

新潟大学・医歯学総合病院・准教授

研究者番号：20397136

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：多血小板血漿 (PRP)、多血小板フィブリン (PRF) を用いて凍結保存歯移植後の歯周組織の再生を促進させることを目指して研究を行い、PRPを用いた移植では歯周組織の再生が促進されることが示唆された。更に骨髄単核球細胞を用いたティッシュエンジニアリングを併用した研究を行ったところ、歯の周囲の骨再生の促進が認められた。

また歯の移植におけるCox予後予測モデルのValidation studyにおいては、プロトコル群および後プロトコル群において統計学的に有意差を認めた。前プロトコル群では両リスク群に有意差は認めなかったが、生存曲線は経時的に離れ、高リスク群が低い累積生存率を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

永久歯の先天欠如は人口の0.15～16.2%とされており、治療が必要な症例も多い。先天欠如に対する治療として、矯正治療や補綴治療、インプラントによる治療の他に、患者自身の別の部位の歯を移植する自家歯牙移植が行われている。他の治療と比較した自家歯牙移植のメリットは、高い機能性と審美性、治療時間と費用の節約、患者の年齢制限が少ないことなどである。

一方、自己歯牙移植の欠点として、予後が移植される受容側の骨の状態に影響されることが挙げられる。骨幅の狭い歯槽部への移植を可能にする方法として、歯の移植と同時に骨増生を行うことができれば、手術回数を減らすことができる。同時に治療期間の短縮が見込まれる。

研究成果の概要(英文)：Research was conducted to promote periodontal tissue regeneration after cryopreserved tooth transplantation using platelet-rich plasma (PRP) and platelet-rich fibrin (PRF), and it was suggested that periodontal tissue regeneration was promoted when PRP was used for transplantation. Further studies using bone marrow mononuclear cells in combination with tissue engineering showed that bone regeneration around the teeth was promoted. In a validation study of the Cox prognostic model for tooth transplantation, statistically significant differences were found between the protocol and post-protocol groups. In the pre-protocol group, there was no significant difference between the two risk groups, but the survival curves diverged over time, with the high risk group having a lower cumulative survival rate.

研究分野：口腔外科学

キーワード：多血小板血漿 多血小板フィブリン 歯の移植 骨髄単核球細胞 Validation study

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

歯は咀嚼機能を担う最も重要な器官であるが、加齢に伴ってう蝕や歯周病で失われてしまうことが多い。このような歯の欠損部に歯を補う方法として、義歯、ブリッジや歯科インプラントに加え、歯の移植が有用とされており (Mejare B, et al OS OM OP 2004), 国内外で広く臨床で行われている。新潟大学医歯学総合病院「歯の移植外来」では主に智歯や矯正治療で便宜的に抜去された第一小臼歯などの歯根完成歯の移植を年間 60-70 例行い、90%の症例が良好に経過していることが示された (Sugai T, Yoshizawa M, et al. Int J Oral Maxillofac Surg 2010)。しかしながら、現在歯の移植の対象のほとんどは移植歯の抜歯と移植を同時に行う「即時移植」で、健全な移植歯と移植床が同時に存在する必要があるため、このことが歯の移植の適応が可能な症例を制限している。そこで、歯の移植の適応症拡大のため歯を一時的に凍結保存して移植する「歯の凍結保存と凍結保存歯の移植」の検討を進め、12 例に移植を行い概ね良好な結果を得た一方、歯周組織再生の遅延や緩慢な置換性歯根吸収が認められる症例もあった (Yoshizawa M, Niimi K, et al. Dental Traumatol; (30)71-75; 2014)。また、骨髄由来間葉系幹細胞の培養上清 (MSC-CS) は皮膚の創傷治癒の促進や、骨形成能を有することが明らかとなっており、今後再生医療であらたな治療法一つとして注目されている (Furuta T, et al. Stem Cells Transl Med; 2016, Katagiri W, et al. Head Face Med; 2016)。

2. 研究の目的

当初の研究目的は (1) 歯周組織の細胞の増殖能に凍結保存が及ぼす影響を検討し、さらに (2) MSC-CM を用いて凍結保存歯移植時の歯周組織の再生を促進させ、これにより、凍結保存歯の更なる活用を可能とすることで、最終的に歯の移植の適応拡大を図ることであった。しかしながら研究期間がコロナ禍と重なり、共同研究者と研究現場を往復しての研究を予定通り進めることがかなり困難であった。また、臨床現場での需要の多さから、即時移植のための動物実験研究と併せて、臨床的な研究も行うこととした。

3. 研究の方法

(1) 予備実験

予備実験として、PRP を用いたラットの歯の即時移植実験を行った。生後 10 週齢雄性 Fischer 系ラットを用い、ラットの上顎第一、第二、第三臼歯を抜歯し、同部の抜歯窩を連続するように骨を削除した。さらにあらかじめ別のラット心臓より採血し、PRP を調整した。ラットを以下の 2 群に分け、抜歯窩の処置を行った。抜歯 + PRP (PRP 填塞群)、抜歯のみ (コントロール)。PRP 填塞群の抜歯窩には、調整した PRP を填塞した。コントロール群では抜歯のみ行った。

(2) -リン酸三カルシウム (-TCP) 足場を用いた歯牙移植

骨髄単核球 (BM-MNC) をマウスから採取し、3 週齢のマウスの上顎第一大臼歯または第二大臼歯と -リン酸三カルシウム (-TCP) 足場に BM-MNC を移植した (BM-MNC 群)。その他 BM-MNC を含まない (-TCP 群)、歯のみの移植も行う群 (コントロール群) も設定し 4 週間後に解析を行った。

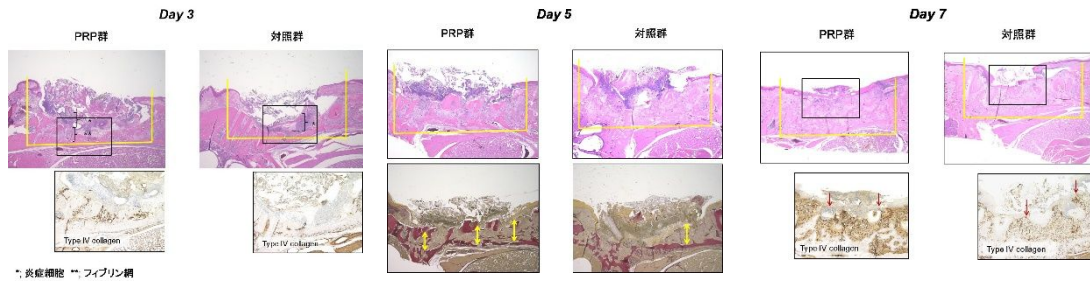
(3) 歯の移植における Cox 予後予測モデルの Validation study

以前移植歯の予後に関わる Cox 比例ハザードモデルとして、ドナー歯の根管治療の既往、歯根の数、ドナー歯が上顎歯、受容部の欠損期間を説明変数としたモデルを提唱したが、これを Prognostic index (PI) を用いてその妥当性を評価した。

4. 研究成果

(1) 予備実験結果

術後 3 日目のコントロール群では骨欠損窩底部に好中球を中心とした炎症性細胞の集塊が認められたのに対し、PRP 群では PRP 下層に炎症性細胞の集塊とフィブリン網の形成、さらにその下方には多数の血管を含む肉芽組織が認められた。また術後 5 日目のコントロール群では骨欠損底部の一部にはまだフィブリン網が認められたのに対し、PRP 群では骨欠損底部からその下の歯槽骨内に線維芽細胞と弾性線維に富む肉芽組織を認めた。一方で、上皮と基底膜の伸長には両群間に大きな差は認めなかった。このことから PRP は上皮の再生に対する関与は少ない一方で、早期からの血管新生および肉芽組織の増生によって抜歯窩の治療を促進していることが示唆された。

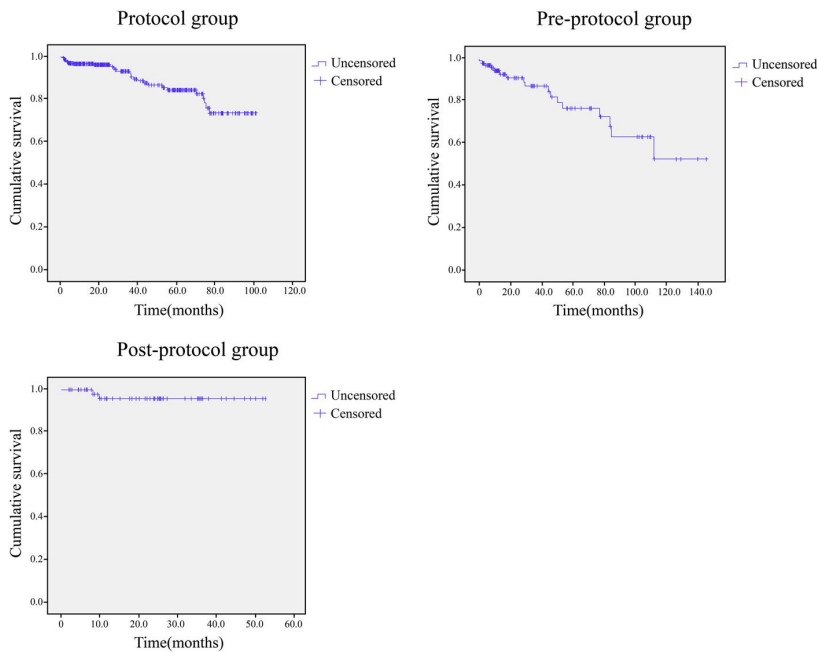


(2) -リン酸三カルシウム足場を用いた歯牙移植の結果

新生された骨量は MNC 群と -TCP 群で対照群より有意に多く、特に側方に新生骨が観察され、特に根の側壁に新生骨が多く見られた。一方で、BM-MNC 群と -TCP 群の間では、新生された骨量に有意差を認めなかった。このことから、-TCP 足場と歯の同時移植はマウスの異所性歯移植モデルにおいて、骨と歯周組織の再生を促進することを示した一方、MNC の明らかな骨新生促進能を示すことはできなかった。

(3) 歯の移植における Cox 予後予測モデルの Validation study の結果

相関係数行列の検討では 3 群共通の因子の組み合わせは 7 つあり、それらは主に上顎および下顎大臼歯を下顎へ移植するパターンを示す因子の組み合わせであった。3 群それぞれの低リスク群と高リスク群の累積生存曲線およびログランク検定では、前プロトコル群および後プロトコル群において統計学的に有意差を認めた。前プロトコル群では両リスク群に有意差は認めなかったが、生存曲線は経時的に離開し、高リスク群が低い累積生存率を示した。



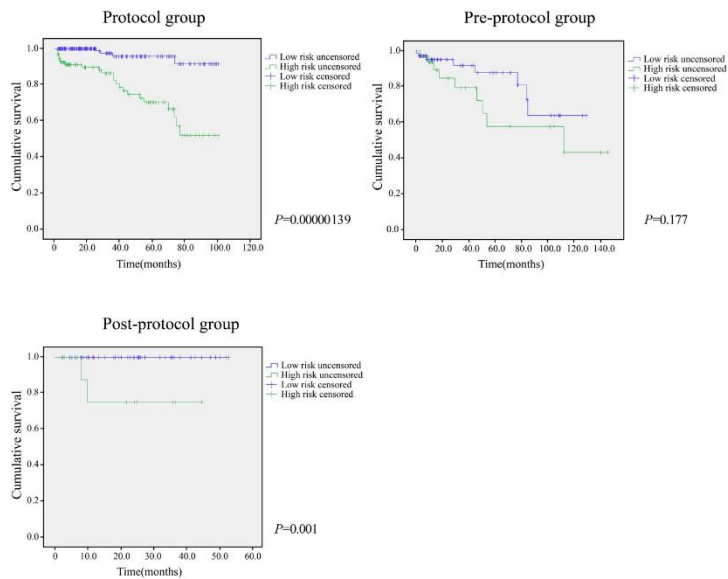
The overall life tables for the autotransplanted teeth in the Protocol, Pre-protocol, and Post-protocol groups.

Number	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Source of donor tooth	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	1	1	0	1
Number of roots	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1	0	1	1
History of root canal treatment	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1
Duration of tooth absence	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1
Prognostic index	0.00	1.10	1.18	1.33	1.53	2.27	2.43	2.51	2.63	2.71	2.86	3.60	3.81	3.96	4.04	5.14



Cutoff value(median of PI)=2.57

Sixteen patterns of PI and tooth autotransplantations divided into low- and high-risk groups. Sixteen patterns of PI were constructed from a combination of four prognostic factors, and the results of all tooth autotransplantations were divided into low- and high-risk groups according to the median of PI (2.57). PI, prognostic index.



Life tables for low- and high-risk autotransplanted teeth were divided according to the median of PI. In the Protocol group, the p value by log-rank test was significant and was therefore used as a test set to calculate the PI with the Cox proportional hazard model. In the Pre-protocol group, although the p value by log-rank test was not significant, the cumulative survival rate curves of the low- and high-risk groups were separated, and the low-risk survival rate was better. In the Post-protocol group, the p value by log-rank test was highly significant. PI, prognostic index.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yoshino Toshiya, Yoshizawa Michiko, Aoyama Shoko, Sugai Toyama Toshiko, Niimi Kanae, Kitamura Nobutaka, Kobayashi Tadaharu	4. 巻 9
2. 論文標題 Validation of a Cox prognostic model for tooth autotransplantation	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Clinical and Experimental Dental Research	6. 最初と最後の頁 969 ~ 982
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/cre2.819	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 内川 恵里, 李 憲起, 松村 奈穂美, 芳澤 享子, 各務 秀明
2. 発表標題 骨髄由来単核球を用いた歯の移植に関する基礎的研究
3. 学会等名 日本口腔科学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 担体と細胞を併用した歯の移植に関する基礎的検討
2. 発表標題 骨髄由来単核球を用いた歯の移植に関する基礎的研究
3. 学会等名 日本口腔科学会総会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	芳澤 享子 (Yoshizawa Michiko) (60303137)	松本歯科大学・歯学部・教授 (33602)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------