

令和 4 年 6 月 16 日現在

機関番号：32645

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K19073

研究課題名(和文)インプラント治療におけるヒト歯髄幹細胞由来骨芽細胞シートによる新規骨造成法の開発

研究課題名(英文)Development of the new bone creation method with the osteoblastic seat derived from a human pulpal stem cell in the implant treatment

研究代表者

村田 拓也(MURATA, TAKUYA)

東京医科大学・医学部・兼任助教

研究者番号：40617718

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文):本研究は、不要な抜去歯から採取した自己細胞であるヒト歯髄を用いて、歯髄幹細胞を骨芽細胞へ分化誘導し三次元的な積層シートの作製を行い、新たな骨造成システムの確立を行うことである。歯髄幹細胞から作製した骨芽細胞積層シートを大型動物骨欠損モデルに移植したA群、B群、周囲骨より自家骨を採取し骨欠損部分に骨造成をしたC群、骨欠損状態のままのD群、の4群で比較検討する計画を立てた。骨評価において、A群、B群、C群、D群、すべての群で骨破壊が進んだ結果となった。要因として、骨芽細胞積層シートの固定が困難なこと、移植部分歯肉創部保護が困難なこと、創部清潔状態確保が困難なことが考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

デンタルインプラント植立に際して、歯槽骨欠損患者に頻繁に遭遇し骨量確保に苦慮することがある。この骨量確保に対して、自家骨やバイオマテリアルの開発が急速な進歩を遂げている。しかし、その形状、術中の操作性、安全性に難点を有し、人体への侵襲が未だ大きく、より安全で簡便な方法はなく問題が残っている。このような問題を解決する方法として、自己細胞であるヒトES細胞、iPS細胞、骨髄間葉系幹細胞などを用いた再生医療が期待されており、本研究も期待できると考えられた。

研究成果の概要(英文): In this study, Using the human pulp which is the self-cell which I gathered from an unnecessary withdrawal tooth, differentiation guides a pulpal stem cell to the osteoblasts, and this study manufactures the three-dimensional laminating seat and is to establish the new bone creation system.

We divided it into four experimental systems, A, B, C, and D, and made a plan to compare and examine them.

In the bone evaluation, it followed that bone destruction advanced in A group, B group, C group, D group, all groups. As a factor, it was thought that the fixation of the osteoblastic laminated seat being difficult, transplant part gingiva wound part protection being difficult, securing of wound region cleanliness state were difficult.

研究分野：口腔外科学

キーワード：デンタルインプラント ヒト歯髄幹細胞 骨造成

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

デンタルインプラント植立に際して、歯槽骨欠損患者に頻繁に遭遇し骨量確保に苦慮することがある。この骨量確保に対して、自家骨やバイオマテリアルの開発が急速な進歩を遂げている。しかし、その形状、術中の操作性、安全性に難点を有し、人体への侵襲が未だ大きく、より安全で簡便な方法はなく問題が残っている。このような問題を解決する方法として、ヒト ES 細胞、iPS 細胞、骨髄間葉系幹細胞などを用いた再生医療が期待されている。しかし、実用化に際しては倫理面や移植安全性、移植細胞の低い生着効率、治療効果の不安定性、幹細胞採取における生体侵襲性など多くの問題を抱えているのが現状である。ヒト歯髄幹細胞は、2000年に Gronthos らがヒト歯髄にも分化能の高い間葉系幹細胞が存在することを報告し (*Proc Natl Acad Sci U S A.* 97:13625-1363, 2000)、さらに、Miura らは脱落乳歯由来歯髄幹細胞 (SHED) にも間葉系幹細胞が存在することを見出し、SHED は骨芽細胞の前駆細胞でもある骨髄由来間葉系幹細胞に比べ約3倍も分裂増殖能が高く、*in vitro*において骨芽細胞、脂肪細胞、神経細胞に分化能を有することを報告した (*Proc Natl Acad Sci U S A.* 100:5807-5812, 2003)。

そこで、インプラント植立時や、サイナスリフト、ソケットリフトが必要な骨欠損部位に、採取が容易な自家ソースであるヒト歯髄幹細胞から骨芽細胞に分化、誘導したヒト歯髄幹細胞由来骨芽細胞積層シートを移植するという低侵襲で安全な骨造成法が有効なのではないかと考えた。

2. 研究の目的

インプラント植立時や、サイナスリフト、ソケットリフトが必要な骨欠損部位に、採取が容易な自家ソースであるヒト歯髄幹細胞から骨芽細胞に分化誘導したヒト歯髄幹細胞由来骨芽細胞積層シートを移植し、新たな骨造成法の安全性・有効性の確立を行い臨床応用を目指すことである。

3. 研究の方法

(1) ヒト歯髄幹細胞から TH を用いた高効率な骨分化誘導を行い、シート状の骨芽細胞の積層化を行う

(2) 大型動物骨欠損モデルにおけるインプラント植立実験

実験動物：ビーグル犬 (メス, 2歳)

実験方法

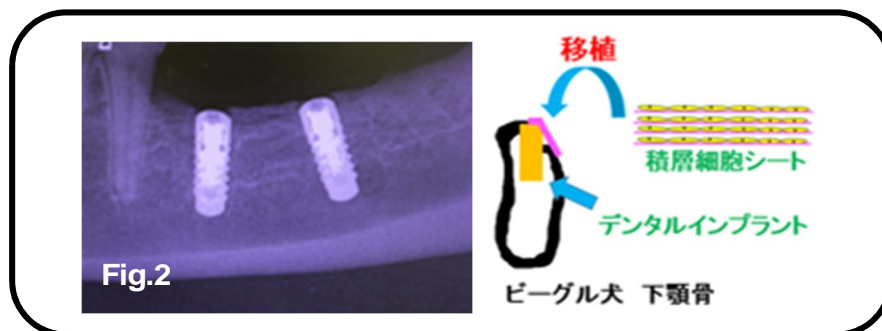
両側下顎臼歯部を両側2本ずつ、4本抜去し抜歯窩骨治癒モデルの作製 (Fig.1)。

骨治癒が得られた6か月後、歯牙欠損部分頬側皮質骨に直径5mmのボックス状に骨削合し1壁性骨欠損モデルを作製する。



インプラント体上方部分が一部露出するように植立し、下記A～Dの4群の実験系を行う (Fig.2)。

- (A 群) 高効率に分化させた積層シートで骨欠損部分を覆うように設置
- (B 群) 高効率に分化させてない積層シートで骨欠損部分を覆うように設置
- (C 群) 周囲皮質骨より自家骨を採取し骨欠損部分に骨造成を行う
- (D 群) 骨欠損状態のままとする



インプラント A~D 群、外界刺激の影響を考慮しすべての植立条件下でチタンメッシュにて覆い完全閉創とする。

評価方法

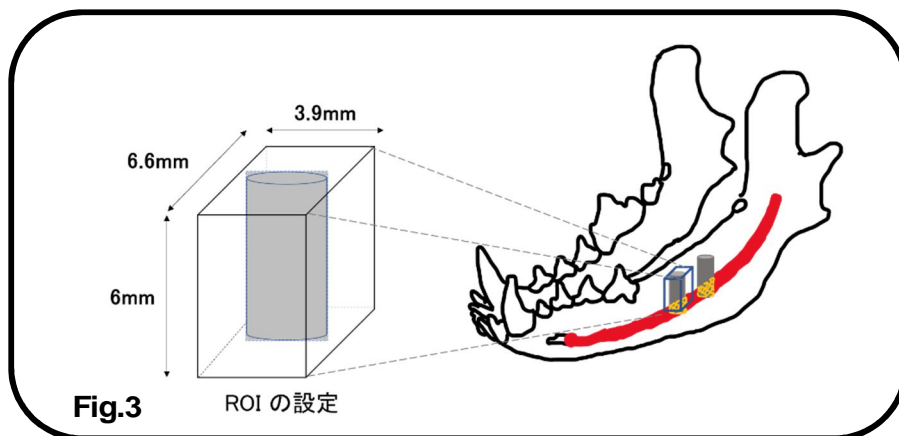
インプラント植立後 3 か月時に屠殺し、下顎骨を摘出。

(1) マイクロCT撮影による骨評価

インプラント体周囲造成骨を評価する目的にて撮影。

インプラント体を中心軸とし 6.6mm × 3.9mm × 6mm のボックス状に範囲を指定した。

計測範囲の決定には、インプラント体による金属アーチファクト、インプラント間距離、下歯槽管部分の空洞による骨容積変化を考慮した(Fig.3)。



(2) 走査型電子顕微鏡 (SEM) による骨評価

インプラント体周囲、骨造成、骨欠損部分の骨組織を評価

4. 研究成果

(1) マイクロCT撮影による骨評価

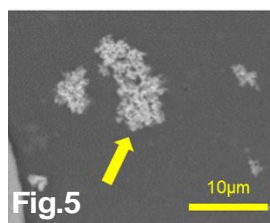
すべての群において、骨破壊が進んでいた(Fig.4)。

(2) 走査型電子顕微鏡 (SEM) による骨評価

新生骨は認めず、インプラント周囲炎が原因と考えられるチタン片を認めた(Fig.5)。

骨破壊が進行した要因として、骨芽細胞積層シートの固定が困難なこと、処置歯肉創部外界刺激保護が困難なこと、処置歯肉創部清潔状態確保が困難なことが考えられた。

ヒト歯髄幹細胞由来骨芽細胞積層シートによる骨添加の実績は証明されているため、大型動物実験において、実験部位や細胞シート固定方法の改善を今後の実験課題とする必要がある。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------