

令和 3 年 5 月 20 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K19226

研究課題名(和文) 間葉系幹細胞培養上清を利用した下顎頭吸収の予防・治療法の検討

研究課題名(英文) Examination of prevention and treatment methods for mandibular condyle resorption using conditioned media from mesenchymal stem cells

研究代表者

須田 大亮 (Suda, Daisuke)

新潟大学・医歯学総合病院・専任助教

研究者番号：20806137

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,500,000円

研究成果の概要(和文)：顎変形症に対する外科的矯正手術後の下顎頭吸収に対する予防法・治療法の検討のため、下顎骨延長モデルに間葉系幹細胞の培養上清(MSC-CM)を投与する実験を行った。ラット大腿骨から採取した間葉系幹細胞を培養してMSC-CMを採取した。ラット下顎骨に延長装置の装着し、10日間かけて下顎骨の右側を3.5mm延長することで下顎頭に負荷をかけた。延長を行う10日間に、MSC-CMを合計3回、尾静脈より投与を行った。MSC-CMを投与した群は下顎骨延長術前と比較して下顎頭の骨量と骨塩量が上昇していた。対照群は逆に低下を示していた。上記の実験よりMSC-CMが下顎頭吸収を防ぐ効果がある可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

進行性下顎頭吸収(Progressive condylar resorption:PCR)は顎変形症に対する外科的矯正手術後の患者にしばしばみられる下顎頭吸収であり、手術後の後戻りの原因の一つとされている。手術後の下顎頭吸収の予防法・治療法の検討のため、下顎骨延長モデルに間葉系幹細胞の培養上清(MSC-CM)を投与する実験を行った。MSC-CMを投与したラットの下顎頭は骨形成が促進している所見を認めため、MSC-CMが下顎頭吸収の予防法・治療法として効果を発揮することができる可能性を示すことができた。

研究成果の概要(英文)：An experiment of the rat mandibular distraction model with administration of conditioned media from mesenchymal stem cells (MSC-CM) was conducted in order to examine preventive and therapeutic methods for mandibular condyle resorption after orthognathic surgery. Rat mesenchymal stem cells (MSCs) were collected from bone marrow of rat femur. The cells were cultured and conditioned media was collected and used as MSC-CM. The rats underwent the surgical procedure installing the extension device at the age of 10 weeks. The right side of the mandible was distracted to load the mandibular condyle. During the 10 days of distraction, MSC-CM was administered via the tail vein three times. In the MSC-CM-administered group, the total bone volume and bone mineral density of the mandibular condyle were increased compared to before the mandibular extension. On the contrary, control groups showed a decrease. From the experiments, MSC-CM may be effective in preventing mandibular condyle resorption.

研究分野：外科系歯学関連

キーワード：下顎頭吸収 MSC-CM ラット下顎骨延長モデル

1. 研究開始当初の背景

進行性下顎頭吸収 (Progressive condylar resorption, PCR) は顎変形症に対する外科的矯正手術後の患者にしばしばみられる異常な下顎頭吸収で、外科的矯正手術の後戻りの原因の一つとされている。申請者らはこれまでにラット下顎骨延長モデルを用いた実験で異常な下顎頭吸収を再現し、力学的負荷が PCR をはじめとした下顎頭吸収に大きく関わっていることと、下顎頭の骨量・骨微細構造の低下が下顎頭吸収の増大に関連することを明らかにしてきた。しかしながら、異常な下顎頭吸収を防ぐ方法はいまだに確立されていない。間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cells, MSC) の培養上清 (conditioned media from MSCs, MSC-CM) 中には明らかだけで百数十種類のサイトカインが含有されており、組織再生に重要な役割を果たしているという報告が近年なされている。

2. 研究の目的

本研究でラット下顎骨延長モデルに MSC-CM の投与を併用し、下顎頭の異常な骨吸収に対する MSC-CM の影響を明らかにし、PCR の予防法・治療法の手掛かりを探る。

3. 研究の方法

【MSC-CM の準備】

ラット間葉系幹細胞 (MSC) は採取したラット大腿骨の骨髓に細胞培養液を還流させて採取した。細胞培養し紡錘状の形態をした細胞を採取し MSC とした。MSC をダルベッコ改変イーグル培地 (DMEM) で 48 時間培養し、上清を採取して MSC-CM とした。

【実験スケジュール】

下顎骨延長モデルラットは 10 週齢で延長装置の装着術を実施し、5 日間の治癒期間を経た後に 10 日間かけて下顎骨の右側を 3.5 mm 延長し下顎頭に負荷をかけた。延長を行う 10 日間に、MSC-CM は 5 日ごとに合計 3 回、尾静脈より投与を行った (MSC-CM 群)。対照として細胞培養液のみ投与した群 (DMEM 群) と、投与を行わない群 (Control 群) も実験を行った。

【下顎骨延長装置の装着術】

三種混合麻酔薬での麻酔下で手術を行う。ラットの下顎右側を除毛したのちに、顎下の皮膚を切開する。咬筋の筋束を分けて下顎骨下縁に到達し露出させる。下顎骨の骨切りを電気エンジン型ハンドピースと切削バーでおこない、完全な骨切りに至る前にチタンマイクロスクリューを骨切り線の両脇に、皮膚を貫通させて埋入する。皮膚から露出したマイクロスクリューに歯科用エキスパンションスクリューとレジンで作成した延長装置を装着し、完全な骨切りを行う。延長装置が正しく動作するのを確認したのちに創を縫合して装着術は終了となる。

【下顎頭の評価】

各群のラットの下顎頭は μ CT で経時的に撮影を行い、形態を評価した。CT データより下顎頭の Total bone volume と、Bone Mineral Density を計測して 3 群間で比較した。

4. 研究成果

それぞれの群で下顎頭の骨の吸収や添加が生じ、形態変化を認めた。MSC-CM 群は下顎骨延長術前と比較して下顎頭の Total Bone Volume と Bone Mineral Density が上昇していた。ほかの対照群は逆に低下を示していた。

上記の結果より、MSC-CM は下顎頭の骨形成を促進する効果があり、下顎頭吸収を引き起こす力学的負荷に対する抵抗性をもたらす可能性があることを示した。

MSC-CM により、血管新生 (VEGF) の亢進や下顎頭軟骨層の肥厚を認めているが、どのような機序で影響しているかはさらなる研究が必要である。

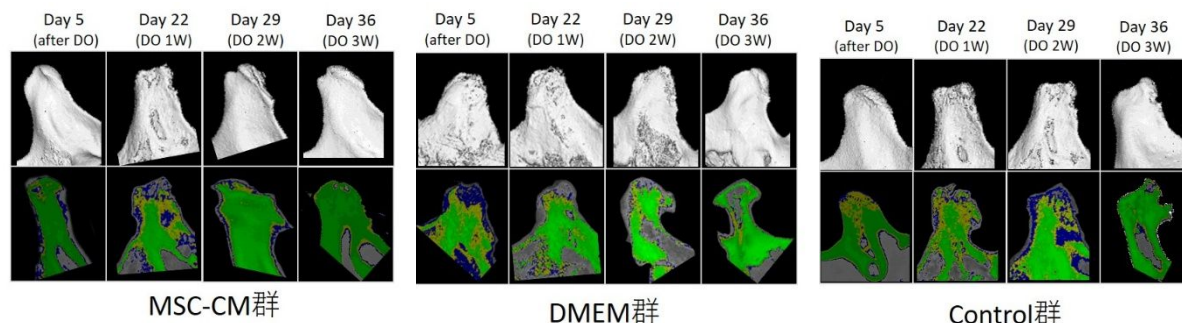
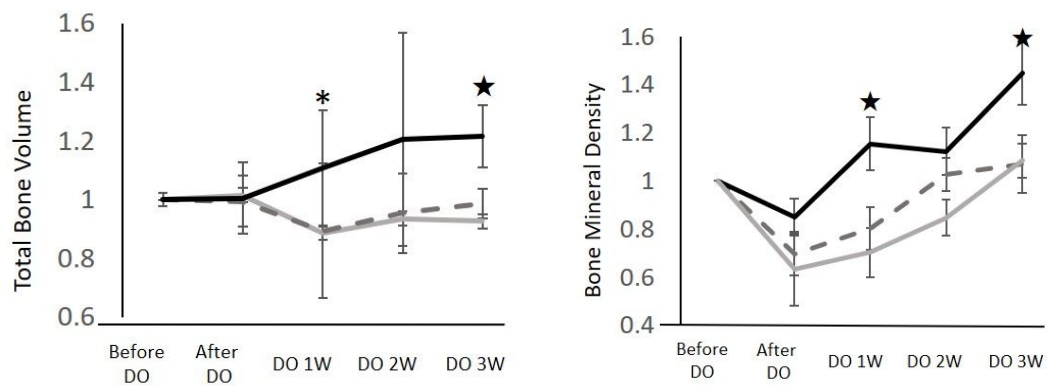


図 1: 各群の下顎頭の経時的変化 (上段: 3 次元構築像 下段: CT 値のカラーマッピング像)



*p<0.05 vs. control, ★p<0.05 vs. DMEM and control

図2 : 各群の Total Bone Volume と Bone Mineral Density の経時的推移

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 Katagiri Wataru, Endo Satoshi, Takeuchi Ryoko, Suda Daisuke, Saito Naoaki, Kobayashi Tadaharu	4. 巻 7
2. 論文標題 Conditioned medium from mesenchymal stem cells improves condylar resorption induced by mandibular distraction osteogenesis in a rat model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Heliyon	6. 最初と最後の頁 e06530 ~ e06530
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.heliyon.2021.e06530	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
---------	---------