

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 30 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23593029

研究課題名(和文) 間葉系幹細胞移植による骨再生技術の最適化と顎裂閉鎖治療への応用

研究課題名(英文) Optimization of bone regeneration by use of mesenchymal stem cells and its application for closure of jaw cleft

研究代表者

谷本 幸太郎 (Kotaro, Tanimoto)

広島大学・医歯薬保健学研究院・教授

研究者番号：20322240

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、骨髄由来間葉系幹細胞(MSCs)および新規担体である炭酸アパタイト(CAP)を用いた顎裂部の骨再生法を確立することである。ビーグル犬の上顎両側に人工的な顎裂を作製した。MSCsは、腸骨から骨髄を吸引採取し、単離培養した。1か月後、MSCsとCAP担体を作製した顎裂部に移植した。

顎裂部の骨再生はMSCsとCAPの移植により3か月後に達成された。また、CAPは破骨細胞により急速に吸収されることが明らかとなった。さらに、再生骨への矯正的な歯の移動が可能である事が示された。MSCsとCAPの移植は、口蓋裂患者における顎裂部の骨再生の新しい治療法として有効である可能性が強く示唆された。

研究成果の概要(英文)：The purpose of our study is to establish bone regeneration of jaw cleft by use of bone marrow-derived mesenchymal stem cells (MSCs) with a new scaffold, carbonated-hydroxyapatite (CAP). A artificial jaw cleft was created on the both side of maxilla in Beagle dogs. MSCs were derived from bone marrow of iliac bone by use of an aspiration needle, and cultured. After 1 month, MSCs and new scaffold material, CAP granulated powder, were transplanted into the artificial bone defects. Bone regeneration at jaw cleft site was achieved successfully by the transplantation of MSCs/CAP after 3 months. It is also demonstrated suggested that CAP particles could be digested rapidly by osteoclasts. In addition, orthodontic tooth movement into regenerated bone was also achieved. It is emphasized that MSCs/CAP transplantation therapy has a great potential as a new treatment modality for bone regeneration in CLP patients with bone defect due to jaw cleft.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学、矯正・小児系歯学

キーワード：歯科矯正学

## 1. 研究開始当初の背景

口唇裂・口蓋裂 (CLP) は、我が国において最も頻度の高い先天奇形であり、複数の遺伝子要因と環境要因から発症する疾患である。口蓋裂治療における顎裂閉鎖治療時の腸骨の採取は長期にわたる術後疼痛や歩行困難を惹起し、これに伴う学齢期の長期入院は、患者の身体的・経済的負担と精神面における影響が大きく、CLP 患者や家族からの改善の要望が強かった。これを解決する手段として再生医療の応用が考えられるが、他の部位の骨再生術式をそのまま用いるのではなく、顎裂閉鎖治療に最適な術式の検証が必要不可欠であると考えられる。

## 2. 研究の目的

骨髄から抽出した未分化間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cell; MSC) および新規の未焼結炭酸アパタイト (carbonated hydroxyapatite; CAP) 顆粒担体を用いて、人為的な歯の移動を可能とする骨の再生を目指した MSC 移植技術を確立し、患者負担を軽減した効率的な顎裂閉鎖治療法を開発することを目的とした。

## 3. 研究の方法

研究期間中において、骨髄より採取した MSC を CAP 顆粒担体上で培養・増殖させ、これを移植体とした顎裂部の新規骨再生治療法を細胞培養系および動物実験系を用いて確立する。

1) CAP 顆粒担体上での MSC の動態および CAP の生体吸収性の検討

2) 実験動物を用いた骨再生過程における MSC の動態と骨再生様相の検討

3) 骨再生部位への歯の移動様相の検討

## 4. 研究成果

ビーグル犬の上顎両側に人工的な顎裂を作製した。MSCs は、腸骨から骨髄を穿刺針を用いて吸引採取し、単離培養した。培養 MSCs の検討では、CAP 担体上での増殖分化が確認された。さらに、CAP 担体の破骨細胞による吸収像が確認された。

培養 1 か月後の MSCs と CAP 担体を作製した顎裂部に移植した。顎裂部の骨再生は MSCs と CAP の移植により 3 か月後に達成された。蛍光標識した MSCs は、再生骨中の骨小窩の中に認められたことから、骨再生に関与したことが示唆された。また、CAP は破骨細胞により急速に吸収されることが明らかとなった。さらに、再生骨への矯正的な歯の移動が可能である事が示された。MSCs と CAP の移植は、口蓋裂患者における顎裂部の骨再生の新しい治療法として有効である可能性が強くと示唆された。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 3 件)

1. Tanimoto K, Sumi K, Yoshioka M, Oki N, Tanne Y, Awada T, Kato Y, Sugiyama M, Tanne K. Experimental Tooth Movement Into New Bone Area Regenerated by Use of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells. Cleft Palate Craniofac J. 2014, in press. 査読有

2. Yoshioka M, Tanimoto K, Tanne Y, Sumi K, Awada T, Oki N, Sugiyama M, Kato Y, Tanne K. Bone regeneration in artificial jaw cleft by use of carbonated hydroxyapatite particles and mesenchymal stem cells derived from iliac bone. Int J Dent. 2012;2012:352510. 査読有

3. Tanne K, Papagerakis P, Papaccio G, Kitamura C, Tanimoto K. Tissue regeneration in dentistry. Int J Dent. 2012;2012:586701. 査読有

[学会発表](計 7 件)

1. 沖 奈苗, 谷本幸太郎, 吉岡基子, 鷲見圭輔, 吉見友希, 杉山 勝, 丹根由紀, 丹根一

夫. 顎裂部骨再生と血管新生における顎骨  
骨髓由来間葉系幹細胞の役割: 第 37 回日  
本口蓋裂学会 (佐賀), 2013. 5 30-31.

2. Tanimoto K., Bone Regeneration by use of  
Mesenchymal Stem Cells for Treatment of Jaw  
Cleft: Part I, Evaluation of a New Carbonated-  
hydroxyapatite Scaffold. 8<sup>th</sup> Asian pacific  
orthodontic conference 47<sup>th</sup> Indian orthodontic  
conference, The Ashok, New Delhi, 2012. 11.  
29- 12. 2

3. Yoshioka M., Bone Regeneration by use of  
Mesenchymal Stem Cells for Treatment of Jaw  
Cleft: Part II, Orthodontic Tooth Movement  
into the Regenerated Bone Area, 8<sup>th</sup> Asian  
pacific orthodontic conference 47<sup>th</sup> Indian  
orthodontic conference, The Ashok, New Delhi,  
2012. 11. 29- 12.

4. Sumi K., Tanimoto K., Tanne Y., Yoshioka  
M., Oki N., Tanne K. An establishment of jaw  
cleft treatment with bone regeneration by use  
of bone marrow -derived mesenchymal stem  
cells: 24th Taiwan Association of Orthodontists  
Annual Conference (Taipei), 2012. 12. 8-9.

5. 沖 奈苗, 谷本幸太郎, 吉岡基子, 鷺見圭  
輔, 吉見友希, 杉山 勝, 丹根由起, 丹根一  
夫. 骨髓由来未分化間葉系幹細胞を用いた  
顎裂閉鎖治療:顎骨骨髓の有用性の検討.  
第 36 回日本口蓋裂学会 (京都), 2012. 5.  
21-22.

6. 鷺見圭輔, 谷本幸太郎, 丹根由起, 吉岡  
基子, 松田弥生, 吉見友希, 沖奈苗, 杉山  
勝, 丹根一夫. 骨髓由来間葉系幹細胞を用  
いた顎裂閉鎖治療法の確立 - 担体の代謝に  
ついての検討 - . 第36回日本口蓋裂学会  
(京都), 2012. 5. 21-22.

7. Sumi K., Tanimoto K., Tanne Y., Yoshioka  
M., Oki N., Sugiyama M., Tanne K. An  
establishment of jaw cleft treatment with bone  
regeneration by use of bone marrow-derived  
mesenchymal stem cells: 第 45 回広島大学歯  
学会総会 (広島), 2012. 6. 9.

8. Tanne K., Yoshioka M., Sumi K., Tanne Y.,  
Tanimoto K. Bone regeneration in the treatment  
of bone defect in the cleft lip and palate patients  
with mesenchymal stem cells: 87<sup>th</sup> Congress  
of the European Orthodontic Society (Istanbul),  
2011. 6. 19-23.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
出願状況 (計 0 件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
出願年月日 :  
国内外の別 :

取得状況 (計 0 件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
取得年月日 :  
国内外の別 :

〔その他〕  
ホームページ等

6 . 研究組織  
(1)研究代表者  
谷本 幸太郎 (TANIMOTO KOTARO)  
広島大学・医歯薬保健学研究院・教授  
研究者番号 : 20322240

(2)研究分担者  
丹根 一夫 (TANNE KAZUO)  
広島大学・医歯薬保健学研究院・名誉教授  
研究者番号 : 30159032

杉山 勝 (MASARU SUGIYAMA)  
広島大学・医歯薬保健学研究院・教授  
研究者番号： 70187681

丹根 由起 (TANNE YUKI)  
広島大学・医歯薬保健学研究院・助教  
研究者番号： 50526241

国松 亮 (KUNIMATSU RYO)  
広島大学・医歯薬保健学研究院・助教  
研究者番号： 40580915

(3)連携研究者  
( )

研究者番号：