

令和 4 年 6 月 9 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K10208

研究課題名(和文) 咬合メカニカルストレスによる歯周組織形成・成熟機構に立脚したバイオ人工歯根の開発

研究課題名(英文) Development of a bio-artificial tooth root based on the mechanism for periodontal tissue formation and maturation by using occlusal stress.

研究代表者

大島 正充 (OSHIMA, Masamitsu)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(歯学域)・准教授

研究者番号：00548307

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本課題では、現在の口腔インプラント治療が抱える歯周組織の欠如に起因した問題を解決するために、天然歯と同等の歯周組織構造と生理機能を有するバイオ人工歯根を開発した。抜歯窩の歯周組織を利用した移植技術により、バイオ人工歯根は歯周組織を介する顎骨生着が認められ、天然歯とほぼ同等の生理的動揺度を示していた。また、バイオ人工歯根表面には天然歯と同等のセメント質形成が認められるとともに、歯根膜コラーゲン線維が機能的に結合しており、口腔インプラント治療の課題とされてきた、天然歯の歯周組織の解剖学的構造と生理機能を補填する次世代型のバイオ人工歯根を実現可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

口腔インプラント治療は、インプラント体と歯槽骨とが直接的に結合して咀嚼機能や審美性の回復を可能としている。しかし、現在の口腔インプラントは、天然歯のような歯根と歯槽骨を連結し、生理機能を担う歯周組織が存在していない。本研究成果は、天然歯と同等の歯周組織を介した顎骨生着を可能とすることにより、従来の骨結合型インプラントに欠如している歯の生理機能を回復することが示された。今後、従来のインプラント治療では禁忌とされてきた若齢患者へのインプラント治療の適応拡大や、高齢患者の咀嚼機能の回復と咬合刺激の中樞伝達によるオーラルフレイル・認知症予防にも貢献する可能性が高い。

研究成果の概要(英文)：The aim of this research project is the development of bio-hybrid dental implant system with fully functional periodontal tissue formation. We established a transplantation system of bio-hybrid implant by developing both of a transplantation device and a tooth root-formed dental implant that can promote periodontal tissue formation around implant. This bio-hybrid implant system was analyzed by transplantation into dog model, and we could demonstrate the anatomical structure and physiological functions of periodontal tissue around bio-hybrid implant. Our results showed the feasibility of a next-generation bio-hybrid dental implant that compensates for the periodontal tissue of natural teeth, which has been considered an issue in the conventional dental implant treatment.

研究分野：歯科補綴学

キーワード：歯科インプラント 歯周組織 メカニカルストレス

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

超高齢社会を迎えた我が国において、歯の喪失や機能障害に対する本質的解決は、国民の健康長寿を支える重要課題とされている。口腔インプラント治療は、高い咬合機能の代替と長期的予後の安定性から、従来の歯科医療を根本から変革する治療にまで発展した。しかしながら、現在の口腔インプラントは、歯槽骨と直接結合することから、天然歯のような歯周組織が存在しないことが問題であるとされており、歯の移動能や神経伝達能などの生理機能の回復が困難である。具体的には、インプラント治療は歯周組織の欠如により、顎骨が成長過程にある若年者に適応不可であることや、経年的な咬合変化への対応が困難、口腔内の天然歯との連結が不可能であるといった解決すべき課題がある。最近では、インプラント治療を受けた高齢者が要介護状態となった場合に、不衛生状態からインプラント周囲の重度炎症や誤嚥性肺炎を生じることも報告されており、天然歯の抜歯処置と同様に、簡便に抜去可能なインプラントが介護医療の現場から切望されている。

再生医学は幹細胞と組織工学を高度に融合させ、次世代の医療を担う研究開発として推進されている。歯科領域においても歯周組織を形成可能な組織幹細胞が同定されていることから、幹細胞利用と組織工学技術の融合により、永らく口腔インプラント治療の課題とされてきた、天然歯の歯周組織の解剖学的構造と生理機能を補填する次世代型のバイオ人工歯根を開発することが本質的な歯科再生治療の発展・実現のためにも強く望まれている。

### 2. 研究の目的

天然歯の咬合メカニカルストレスを介した歯周組織の形成・成熟メカニズムを解明し、その刺激付与を可能とする移植技術を確立することにより、「歯周組織形成を有するバイオ人工歯根」を開発する。本提案のバイオ人工歯根は歯周組織を介して顎骨と生着し、歯周組織の構造・生理機能を完全に回復するものであり、現行の骨結合型インプラントとは根本的に生着様式の異なるものである。これにより、天然歯の構造・機能を補完しうる、より生物学的な次世代歯科再生技術の確立を目指す。

### 3. 研究の方法

#### (1)咬合メカニカルストレスによる歯周組織形成・成熟の解明と応用

本項目では、①マウス対合歯を削合した咬合不全モデルを作製し、対象歯の歯周組織の退縮変化を観察すると共に、途中で咬合刺激を再度負荷した実験系を組み込むことにより、その前後で変動する分子群を抽出する。②マウス歯牙に樹脂添加を行った咬合過高モデルを作製し、対象歯の歯周組織の破壊過程を観察すると共に、途中で樹脂材料を除去して、天然歯と同等の咬合負荷に戻す実験系を組み込むことにより、治癒・再生過程において変動する分子を同様に抽出する。これら天然歯周組織の退縮と成熟、破壊と治癒過程に発現する分子マーカーの比較検討を行い、候補となる分子の選定を行う。③天然歯の発生過程や、上記の咬合付与モデルにおいて同定された分子マーカーの発現を *in situ* hybridization、免疫化学染色にて解析することにより、適切な咬合刺激を判別できる分子マーカーの同定を行う。

#### (2)バイオ人工歯根の移植システムの開発

バイオ人工歯根の実用化に向けた課題として、①歯根膜細胞を効果的にインプラント周囲に付与するために、歯根膜細胞の性質解析と、細胞シート化技術の検討を行う。②金属・樹脂材料を成型し、天然歯と連結させる形状にて固有咬合によるメカニカルストレスを間接的に人工歯根に伝達可能な移植用デバイスを作製する。③研究項目(1)にて同定された分子マーカーの発現を解析し、最適なメカニカルストレス付与を可能とするデバイス形状の模索を行う。また、GFP導入した歯根膜細胞シートを利用して、インプラント周囲に形成された歯周組織の由来解析を行う。④本技術により生着したバイオ人工歯根に対して、実験的矯正および末梢神経の侵害刺激試験にて、バイオ人工歯根が天然歯の生理機能を有するかを解析する。

#### (3)大型動物モデルにおけるバイオ人工歯根の検証

本項目では、①上述のマウスモデルにて治療概念が実証されたメカニカルストレスを伝達可能なデバイス形状を基本技術として、イヌモデルに利用可能な「実用化型のメカニカルストレス伝達デバイス」を設計・開発する。②開発デバイスとヒト用インプラントを融合し、イヌモデルへの移植にて評価を行い、歯周組織を介したバイオ人工歯根の生着をレントゲンや組織学的解析、電子顕微鏡により解析する。③バイオ人工歯根周囲への効率的な歯周組織形成を賦活化するために、既存のインプラントから表面構造・性状の変更や、顎骨 CT 情報と CAD/CAM 技術を応用した患者固有の歯根形態を付与したテーラーメイド型バイオ人工歯根の開発を検討する。

#### 4. 研究成果

##### (1)咬合メカニカルストレスによる歯周組織形成・成熟の解明と応用

マウス臼歯を対象とした咬合喪失および咬合負荷モデルを作製し、対象歯の歯周組織の組織学的変化を観察した。咬合喪失モデルでは歯根膜組織の委縮が一部見られたものの、歯周組織としては正常の範囲内であった。より長期的な経過を観察する必要性が示された。一方で、咬合負荷モデルでは歯周組織内に炎症性細胞の浸潤が著しく、経過観察期間に伴って歯根膜組織や歯槽骨における組織破壊の傾向が認められた。

##### (2)バイオ人工歯根の移植システムの開発

マウスモデルにて、コバルトクロム線を用いた咬合刺激伝達を可能とする移植デバイスを製作した。拔牙窩に残存した歯根膜組織を利用した移植モデルにおいて、移植デバイスとマウス用ハイドロキシアパタイトコーティング人工歯根を組み合わせた顎骨移植を行うことにより、インプラント周囲に天然歯と同等の歯周組織形成が認められた。また免疫化学染色により、インプラント周囲の歯根膜組織にはニューロフィラメント陽性の末梢神経線維が確認されており、バイオ人工歯根が神経伝達を可能とする生理機能を有する可能性が示唆された(図1)。

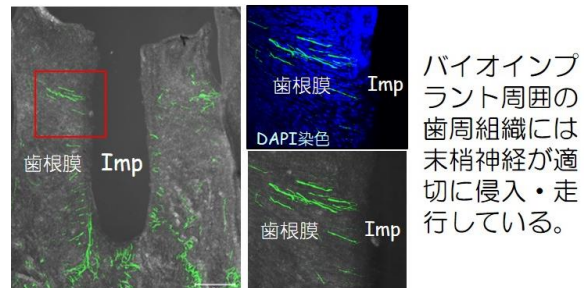
また、培養した歯根膜細胞から作製した細胞シートをインプラント周囲に付与する移植モデルでは、移植デバイスなしの条件下で人工歯根を移植した場合は、人工歯根周囲に不完全な歯周組織の形成を認めた。一方で、移植デバイスを付与した状態で人工歯根を移植した場合には、移植後の顎骨生着が認められ、組織学的解析により天然歯と同等の歯周組織形成が示された。

##### (3)大型動物モデルにおけるバイオ人工歯根の検証

インプラント企業と連携し、すでに市販されているヒト用インプラントのネジ切り構造を無くしたバイオ人工歯根の試作品を開発した。表面性状としては、天然歯根のセメント質に類似した性質として、ハイドロキシアパタイトの表面コーティングを付与し、歯根膜組織の結合が天然歯と同様になるよう設計した。イヌ顎骨における拔牙窩への移植により、レントゲン及び組織学的解析により、歯周組織を介する顎骨生着が認められた。バイオ人工歯根は、イヌ天然歯とほぼ同等の生理的動揺度を示していた。電子顕微鏡解析により、バイオ人工歯根表面には天然歯と同等のセメント質形成が認められるとともに、歯根膜コラーゲン線維が機能的に結合していることが明らかとなった(図2)。

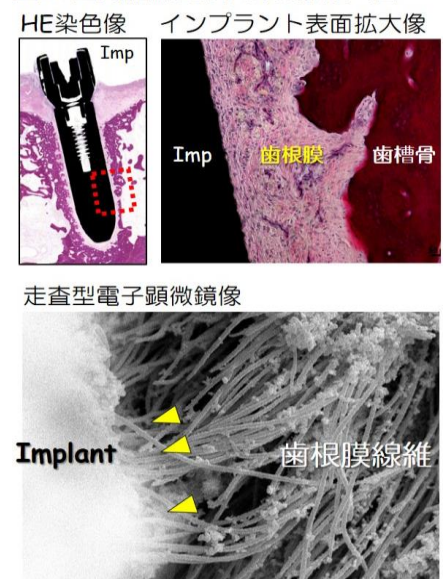
以上の成果より、永らく口腔インプラント治療の課題とされてきた、天然歯の歯周組織の解剖学的構造と生理機能を補填する次世代型のバイオ人工歯根を実現可能性が示された。

図1. 神経機能の評価(マウスモデル)



可能性が示唆された(図1)。

図2. 歯周組織を介した顎骨生着



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 11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 Kawahara Hiroo, Inoue Miho, Okura Kazuo, Oshima Masamitsu, Matsuka Yoshizo	4. 巻 17
2. 論文標題 Risk Factors for Tooth Loss in Patients Undergoing Mid-Long-Term Maintenance: A Retrospective Study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Environmental Research and Public Health	6. 最初と最後の頁 6258 ~ 6258
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijerph17176258	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Afroz Shaista, Arakaki Rieko, Iwasa Takuma, Waskitho Arief, Oshima Masamitsu, Matsuka Yoshizo	4. 巻 21
2. 論文標題 Role of CGRP in Neuroimmune Interaction via NF- B Signaling Genes in Glial Cells of Trigeminal Ganglia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 6005 ~ 6005
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21176005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Abe Susumu, Miyagi Akane, Yoshinaga Kaoru, Matsuka Yoshizo, Matsumoto Fumihiro, Uyama Emi, Suzuki Yoshitaka, Oshima Masamitsu, Okura Kazuo, Tanaka Eiji	4. 巻 9
2. 論文標題 Immediate Effect of Masticatory Muscle Activity with Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation in Muscle Pain of Temporomandibular Disorders Patients	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Medicine	6. 最初と最後の頁 3330 ~ 3330
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jcm9103330	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 松香芳三、大島正充、大倉一夫、細木真紀、鈴木善貴、宮城麻友、井上美穂	4. 巻 33
2. 論文標題 インドネシアの歯学部における学部教育	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本口腔リハビリテーション学会雑誌	6. 最初と最後の頁 55-59
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 武尾真、池田悦子、仲川雅人、小川美帆、大島正充、辻孝	4. 巻 1
2. 論文標題 幹細胞の自己組織化による器官再生とその展望	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ダイレクトリプログラミング 再生医療の新展開	6. 最初と最後の頁 247-259
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 大島正充, 辻 孝	4. 巻 63
2. 論文標題 歯根膜を有する次世代型バイオハイブリッドインプラントの開発	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 整形・災害外科	6. 最初と最後の頁 1409-1416
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Raju Resmi, Oshima Masamitsu, Inoue Miho, Morita Tsuyoshi, Huijiao Yan, Waskitho Arief, Baba Otto, Inoue Masahisa, Matsuka Yoshizo	4. 巻 10
2. 論文標題 Three-dimensional periodontal tissue regeneration using a bone-ligament complex cell sheet	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1656-1656
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-58222-0	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 -

1. 著者名 Farahat Mahmoud, Kazi Gulsan A. S., Taketa Hiroaki, Hara Emilio S., Oshima Masamitsu, Kuboki Takuo, Matsumoto Takuya	4. 巻 248
2. 論文標題 Fibronectin induced ductal formation in salivary gland self organization model	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Developmental Dynamics	6. 最初と最後の頁 813 ~ 825
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/dvdy.78	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mio Naritani, Miho Inoue, Resmi Raju, Mayu Miyagi, Masamitsu Oshima and Yoshizo Matsuka	4. 巻 28
2. 論文標題 Analysis of Bone Marrow-derived Mesenchymal Stem Cell Kinetics after Short-term Stimulation with Tumor Necrosis Factor- (TNF- ).	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Hard Tissue Biology	6. 最初と最後の頁 99-108
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Iwasa Takuma, Afroz Shaista, Inoue Miho, Arakaki Rieko, Oshima Masamitsu, Raju Resmi, Waskitho Arief, Inoue Masahisa, Baba Otto, Matsuka Yoshizo	4. 巻 703
2. 論文標題 IL-10 and CXCL2 in trigeminal ganglia in neuropathic pain	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neuroscience Letters	6. 最初と最後の頁 132 ~ 138
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neulet.2019.03.031	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Afroz Shaista, Arakaki Rieko, Iwasa Takuma, Oshima Masamitsu, Hosoki Maki, Inoue Miho, Baba Otto, Okayama Yoshihiro, Matsuka Yoshizo	4. 巻 20
2. 論文標題 CGRP Induces Differential Regulation of Cytokines from Satellite Glial Cells in Trigeminal Ganglia and Orofacial Nociception	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 711 ~ 711
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20030711	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 大島正充、辻孝	4. 巻 1
2. 論文標題 次世代器官再生医療	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 歯科再生医学 (医歯薬出版株式会社)	6. 最初と最後の頁 294-307
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 大島正充
2. 発表標題 生物学的な歯周組織再生とその応用による次世代バイオインプラント技術の開発
3. 学会等名 第19回日本再生医療学会総会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大島正充, Resmi Raju, Huijiao Yan, 井上美穂, 松香芳三
2. 発表標題 骨 歯根膜線維の複合組織立体形成による歯周組織再生技術の開発
3. 学会等名 第20回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大島正充, Resmi Raju, 井上美穂, 宮城麻友, 松香芳三
2. 発表標題 骨 歯根膜線維の複合組織形成による三次元組織再生技術の開発
3. 学会等名 公益社団法人日本補綴歯科学会 第129回学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Raju R, Oshima M, Inoue M, Morita T, Yan H, Baba O, Inoue M, Matsuka Y.
2. 発表標題 Three-dimensional periodontal tissue regeneration through multi-layering of osteoblastlike and periodontal ligament cells in a using a complex cell sheet.
3. 学会等名 第28回硬組織再生生物学会学術大会
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	井上 美穂  (INOUE Miho)  (20271059)	徳島大学・大学院医歯薬学研究部(歯学域)・助教   (16101)	
研究分担者	秋山 謙太郎  (AKIYAMA Kentaro)  (70423291)	岡山大学・大学病院・講師   (15301)	
研究分担者	松香 芳三  (MATSUKA Yoshizo)  (90243477)	徳島大学・大学院医歯薬学研究部(歯学域)・教授   (16101)	

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