

機関番号：32622

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23659956

研究課題名(和文) 自家脂肪幹細胞を用いた顎骨再生法の確立

研究課題名(英文) The regenerative therapy of the jaw by auto-transplantation of adipose-derived stem cells

研究代表者

新谷 悟 (Shintani, Satoru)

昭和大学・歯学部・教授

研究者番号：80294429

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円、(間接経費) 810,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、ヒト脂肪幹細胞から骨芽細胞あるいは軟骨細胞への分化誘導に対する、化学的・物理的・機械的刺激の有用性を証明した。分化誘導した細胞をヌードマウスに移植し、周辺骨組織の反応、移植部における骨組織の形成過程を形態学的および分子細胞生物学的に明らかにした。iPS細胞のように遺伝子導入は行っていないことから、化学的・物理的・機械的刺激、およびその併用により間葉細胞を分化誘導することによって顎骨の再生医療に応用したことが、すなわち、脂肪幹細胞の分離が技術的に容易であることは、より臨床応用に近い形であると言えるので、有益な低侵襲医療が提供できる可能性を示唆している。

研究成果の概要(英文)：In the present study, we revealed as followed.

1) The advantages of chemical and mechanical stress and a combination of those on human adipose-derived stem cells (ADSCs) have been revealed. 2) By the transplantation of the differentiated ADSCs to nude mice, the histological and molecular-biological investigations of the transplants, which were successfully differentiated into bone tissue, have been carried out. 3) It has been suggested that the therapy might contribute to the novel and advantageous regenerative medicine for bone defect of the jaws, since the study was not utilize gene transfection like iPS cells.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系歯学

キーワード：脂肪幹細胞 骨芽細胞 軟骨細胞 低侵襲性医療 骨再生

### 1. 研究開始当初の背景

脂肪幹細胞は間葉系の幹細胞であり、骨芽細胞や軟骨細胞、筋芽細胞、脂肪細胞に分化する可能性を有する細胞である。成熟脂肪組織由来の脂肪幹細胞から、骨芽細胞あるいは軟骨細胞を分化誘導することにより、骨再生医療に応用することが期待されている。現在、マウスやイヌ脂肪幹細胞を抽出し骨芽細胞に分化誘導することにより骨形成が可能であること、また、人間の脂肪組織から脂肪幹細胞を抽出し、骨芽細胞様細胞に分化することが可能であることが報告されている。一方、同一個体内で脂肪幹細胞抽出し、骨芽細胞へ分化誘導し、骨欠損部（顎骨）に移植した場合の効果については基礎的な研究も含め、報告をみない。また、どの研究の報告でも骨芽細胞発現遺伝子を形質導入しており、倫理的問題が大きく、臨床応用が難しいと考える。本研究計画は、手術等で摘出または吸引され、破棄される予定であった脂肪組織を用い脂肪幹細胞を分離する。分離された脂肪幹細胞からホルモン・サイトカインなどによる化学的刺激、あるいは温度や振動などによる物理的刺激により、（ただし、本研究計画は、より臨床に近い基礎研究を主眼においているため、遺伝子導入は行わない）分化させた骨芽細胞を、マイクロポアを付したハイドロキシアパタイト片、炭酸アパタイト片、またはコラーゲンジエルに埋入し、ヌードマウスの長管骨等骨欠損部に移植することによって、顎骨（歯槽骨）再生治療の治療効果についての基礎的検討を行う

### 2. 研究の目的

顎堤の骨吸収や顎骨欠損に対する骨の再生医療は、歯科・口腔外科領域における重要な治療の一つである。従来、顎堤の形成あるいは顎骨の再建には遊離骨移植、あるいは海綿骨細片移植などによって行われてきた。これらの方法は有用性が高い反面、骨採取に伴う手術侵襲が大きいことから、今日では、よ

り低侵襲で確実な骨の再生方法が望まれている。

そこで本研究計画では、最小限の手術侵襲でより効果的な骨の再生方法を確立するために、口腔内より採取した頬脂肪体または腹部より吸引した体脂肪体より脂肪幹細胞を抽出し、骨芽細胞または軟骨細胞を分化誘導し、骨欠損部位に自家移植することによる骨の再生方法の確立を目標とする。

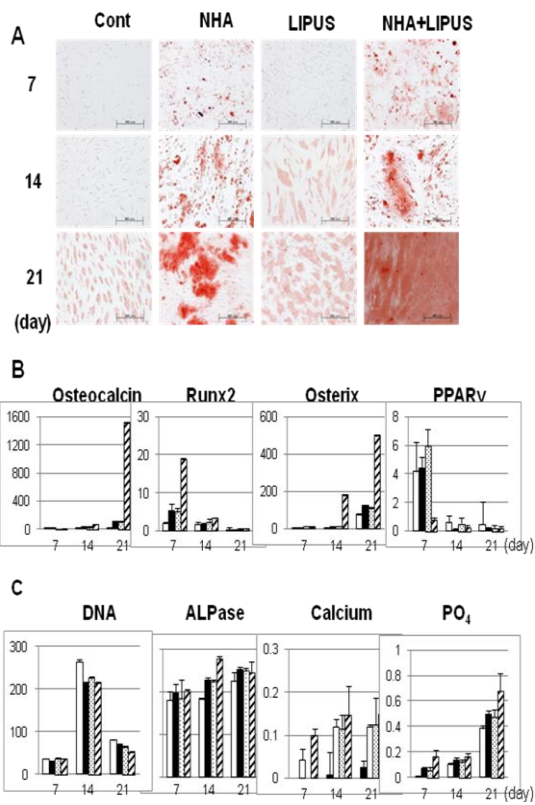
### 3. 研究の方法

本研究計画では、手術などで摘出または吸引され、破棄する予定であったヒトの体脂肪組織から、脂肪幹細胞を分離する。分離した脂肪幹細胞から、ホルモン・サイトカインなどによる化学的刺激、あるいは温度や振動などによる物理的刺激により骨芽細胞様細胞あるいは軟骨細胞様細胞に分化させ、マイクロポアを形成したハイドロキシアパタイト、炭酸アパタイト片、またはコラーゲンジエルに埋入し、ヌードマウスの長管骨骨（大腿骨）欠損部に移植する。移植後、適当な期間の後、欠如部の骨形態、石灰化の程度をレントゲンおよびマイクロCT所見により観察、検討する。また、適当な時期にマウスを屠殺し、移植部位のパラフィン切片を作成し、組織化学的、および免疫組織化学的解析に用いる。

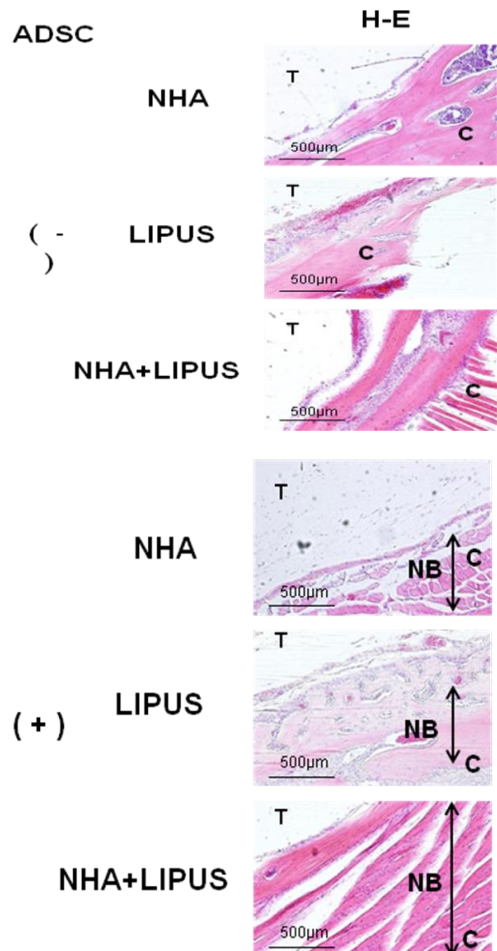
### 4. 研究成果

①脂肪幹細胞（ADSC）に対する骨芽細胞様細胞への分化におけるナノハイドロアパタイト（NHA）とLIPUSの協調的影響。

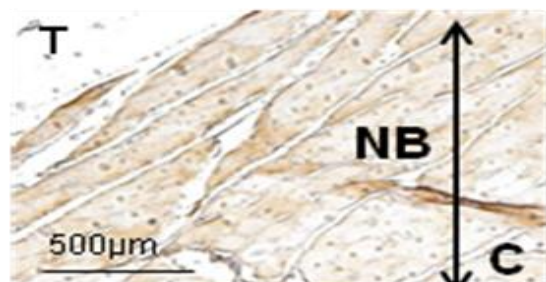
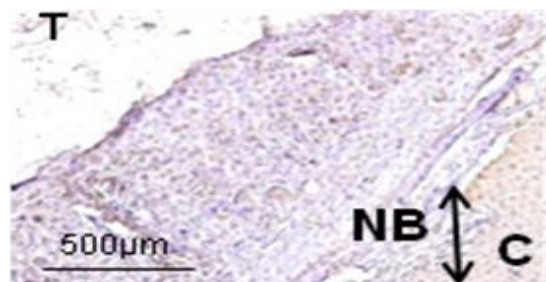
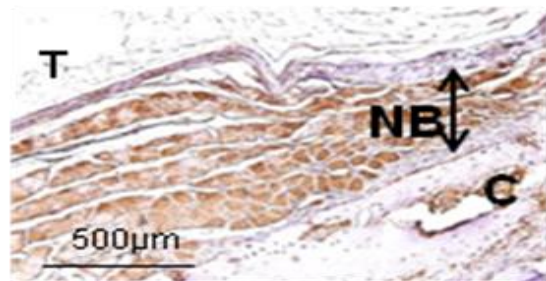
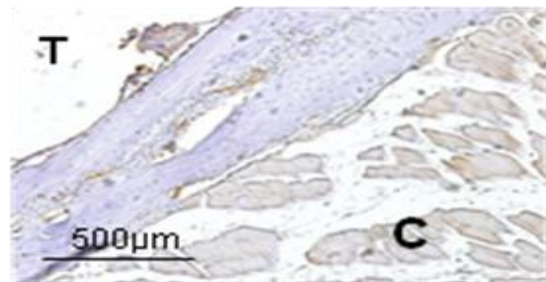
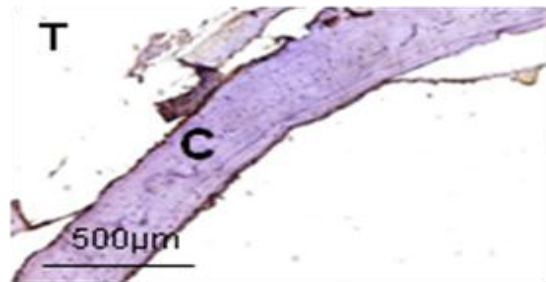
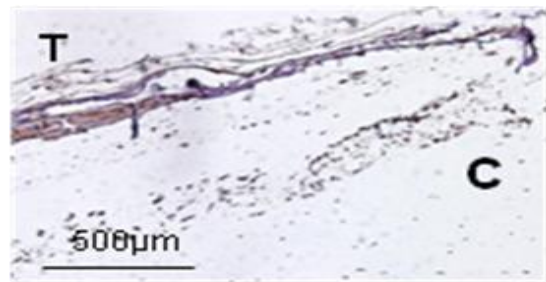
ADSCをNHAの存在下あるいは非存在下で7、14および21日間培養した。Aにはアイザリンレッド染色の結果を示す。Bには、オステオカルシン、Runx2、オステリックスおよびPPAR $\gamma$ 遺伝子に対するリアルタイムPT-PCRの結果を示す。Cには、DNA定量、ALPase活性測定、カルシウムおよびリン酸蓄積測定の結果を示す。



②移植された ADSC 細胞の骨形成に対する、組織化学的な結果。



## Human OC



5.  
主な発表論文等

[雑誌論文] (計 3 件)

1. \*Mukudai, Y., Kondo, S., Koyama, T., Li C., Banka, S., Kogure, A., Yazawa, K., Shintani, S. Potential anti-osteoporotic effects of herbal extracts on osteoclasts, osteoblasts and chondrocytes in vitro. **BMC Complement Altern Med.** 14: 29. 2014.
2. \*Mukudai, Y., Kondo, S., Shiogama, S., Koyama, T., Li, C., Yazawa, K., Shintani, S.. The root bark extracts of Juncus effusus and Paeonia suffruticosa protect salivary gland acinar cells from apoptotic cell death induced by cis-platinum (II) diammine dichloride. **Oncol Rep.** 30:2665-71. 2013.
3. Banka, S., \*Mukudai, Y., Yoshihama, Y., Shirota, T., Kondo, S., Shintani, S. A combination of chemical and mechanical stimuli enhances not only osteo-but also chondro-differentiation in adipose-derived stem cells. **J. Oral Biosci.** 54(7):188-195. 2012.

[学会発表] (計 0 件)

[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  
新谷 悟 (Satoru Shintani)  
昭和大学・歯学部・教授  
研究者番号：80294429

(2) 研究分担者  
近藤 誠二 (Seiji Kondo)  
昭和大学・歯学部・准教授  
研究者番号：10432634

椋代 義樹 (Yoshiki Mukudai)  
昭和大学・歯学部・助教  
研究者番号：50325099

(3) 連携研究者  
該当なし ( )

研究者番号：