

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成30年6月5日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K20477

研究課題名(和文) 培養骨膜細胞による骨代謝活性促進効果の臨床的有効性の検証

研究課題名(英文) Analysis of the clinical efficacy of cultured autogenous periosteum cells in bone grafting

研究代表者

小川 信 (Shin, Ogawa)

新潟大学・医歯学総合病院・特任助教

研究者番号：70624972

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円

研究成果の概要(和文)：現在までに100症例以上の患者に対して本臨床試験を行い、その結果において、従来自家骨移植を適応としない重症の歯槽骨萎縮に対しても骨膜細胞の併用によって組織学的かつ臨床的に良質な骨再生が観察されており、その結果を論文として発表した。またこの培養骨膜細胞を用いた診療は医療委員会の審査を経て2016年1月に厚生労働省に再生療法としての届出を完了し、当院の有料診療項目となった。そして2017年1月より「地域再生医療コンソーシアム」と題して企業と提携して地域の開業歯科医院、病院歯科、また他大学にての施用の導入を計画している。

研究成果の概要(英文)：To date I performed this clinical trial for a patient with more than of 100 cases, and, in the result, clinically histologic and high quality bone reproduction was observed for the seriously ill alveolar bone atrophy not to assume self bone graft adaptation in before by the combination of the periosteum cell and announced the result as an article. In addition, the medical treatment using this culture periosteum cell completed a report as the reproduction therapy after the examination of the medical committee in Ministry of Health, Labour and Welfare in January, 2016 and became the paid medical treatment item of our House. And I cooperate with a company titled "local regenerative medicine consortium" from January, 2017, and a local opening of business dental clinic, hospital dentistry plan introduction of the application at other universities again.

研究分野：再生医療

キーワード：歯科インプラント 再生医療

1. 研究開始当初の背景

イヌに作成した実質的骨欠損にイヌの口腔内より採取した骨膜を培養した培養骨膜細胞を応用した研究によると対照群と比較して歯根の周囲に完全に骨が再生され、組織学的検討からは正常の解剖学的構造を逸脱する所見はないことが示されている (Tissue Engineering 2006;12:1227-1335)。

同様に骨膜を起源とする骨再生現象は骨折の治癒機転においても知られている。生体内での間葉系幹細胞と骨膜細胞の比較では、骨膜細胞ははるかに良好な骨再生をもたらす能力を有することが報告されている (Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2006;102:175-9)。これらの知見は骨膜組織が骨形成における骨芽細胞、血管、破骨細胞を含む多様な骨組織構成細胞の再生を統合的につかさどることを示唆している。

現在、新潟大学医歯学総合病院では移植部・歯周病科・口腔外科・インプラント治療部の連携により、自家骨に再生条件である細胞、足場、増殖因子を混合させ、移植を行う臨床試験を進行させている。細胞には骨系細胞を豊富に含み骨組織の維持再生に重要な役割を果たす骨膜組織を口腔内から採取し、それを培養して使用している。現在までに 100 症例以上の患者に対して本臨床試験を行い、その結果において、従来自家骨移植を適応としない重症の歯槽骨萎縮に対しても骨膜細胞の併用によって組織学的かつ臨床的に良質な骨再生が観察されている。また、移植材に含まれる自家骨を 30%重量まで減らせるため、口腔内の少量の骨採取で全顎的な骨再生が可能となり、腸骨等の口腔外からの採骨が不要となった結果、患者の苦痛軽減や入院期間短縮をもたらした。全ての培養骨膜施用インプラント症例においては治療を完了し、最長 10 年の観察で異常経過は未だ確認されていない。

またこの培養骨膜細胞を用いた診療は医療委員会の審査を経て 2016 年 1 月に厚生労働省に再生療法としての届出を完了し、当院の有料診療項目となった。そして 2017 年 1 月より「地域再生医療コンソーシアム」と題して企業と提携して地域の開業歯科医院、病院歯科、また他大学にての施用の導入を計画している。

2. 研究の目的

私たちは厚生労働省ヒト幹細胞研究の承認のもと、診療部門の横断的連携によって、歯科インプラント症例に培養骨膜細胞による歯槽・顎骨再生治療を広く行ってきた。その研究成果として、再生骨の骨質の評価に独自の 3D-CT 精密画像解析法 (本申請書 4 ページ) を確立し、CT 画像では評価できないとされた再生骨の骨代謝状況の質的計測結果を報告した (Bone 50:2012)。本研究では、3D-CT 精密画像解析法と、新たにインプラン

ト安定性 (ISQ 値) 測定装置を併用し、培養骨膜細胞が再生骨と周囲既存骨の形態・骨質・血行動態に与える影響を数量的に分析する。同様に移植後 3 年以上経過症例について、培養骨膜投与の長期臨床効果を追跡・検証する。これにより、培養骨膜細胞の作用機序と有効性のエビデンスを積みあげ、難症例に対する骨再生細胞療法のさらなる応用拡大を目指す。

3. 研究の方法

・対象と骨膜培養

顎顔面領域の先天性疾患、腫瘍、外傷、炎症性疾患によって生じた歯槽骨および顎骨の欠損を有する患者を対象とする。臨床試験の方法と期待される効果、想定されるリスク、治療費 (負担増なし)、経過観察と CT、諸検査などへの協力について説明し、同意を得る。下顎大臼歯部、臼後部の骨膜組織を 5×10mm 採取して、ウシ胎児血清 (10%)、抗生物質 (1%)、アスコルビン酸 (25 μg/ml) を含む Medium199 にて培養シャーレ上で 6 週間の培養し、細胞シートを製造する。培養操作のすべては医歯学総合病院細胞プロセッシングセンターバイオクリーンルーム (CPC/BCR) 内で、同センターの SOP にそって行う。GMP 基準に準拠した管理体制にある。

・移植

手術時に培養した培養自家骨膜と多血小板血漿 (PRP) および自家骨細片を混合し、移植する。コントロール群には、自家骨細片と PRP を混合したものを移植する。

・CT 画像撮影および 3 次元精密画像解析

・術前、術後 4 カ月 (造影あり)、術後 1 年 (造影あり)、術後 3 年の CT 撮影を行い、画像解析ソフト (Real Intage) によって上顎骨基準点 (前鼻棘・両側上顎結節) による 3 次元座標軸上に 1 mm³ キュービック単位の 3 次元構築データを作成して、再生骨の体積と CT 値の分布データを作成する。(小川)

・術後 4 カ月と術後 1 年の造影 CT データ：時間軸を加えたダイナミック CT データを、同様の 3 次元座標上での 1 mm³ キュービック単位で分析し、形成骨内の血流の状態と造影剤の移行の様相を加えて比較する。(これにより再生骨内の軟組織の性状を分析する)

・再生骨の組織像の比較

再生骨領域へのインプラント体埋入時 (術後 5 カ月) に、埋入孔の再生骨の組織像を分析する。

・再生骨質の臨床的評価

・初期固定トルク (Nm) の計測：インプラント埋入時
 ・ISQ 値 (インプラントの安定指数) の計測：インプラント安定性測定器 (オステル ISQ アナライザ) を用い、埋入時 (骨移植術後 5 カ月)、上部の歯牙様構造装着 (荷重開始時：術後 8 カ月)、術後 1 年、3 年に計測する。

4. 研究成果

画像所見においては CT 別に体積の変化を比較したところ術後 3 年では培養骨膜施用群が皮質骨領域では大きく減少し、海面骨領域では増加しており、術後 1 年と同様に固い移植骨片の吸収と骨の新生が促進されていることが考えられた。また骨造成後のインプラント体の安定指数である ISQ 値を計測したところ培養骨膜併用群に有意に高い値が認められた。さらに術後 3 年の造成骨の CT 値別の割合の結果から培養骨膜細胞によって造成骨は既存骨の性状に類似した状態になり、結果としてインプラント体に安定をもたらしていると考えられた。

また本研究では新たな画像解析ソフト (SYNAPS-VINCENT) を用いて、術前、術後 4 カ月、1 年、3 年、さらには 10 年の CT 画像の造成骨の CT 値分布をヒストグラム化する。そのヒストグラムの分布デジタルデータをエクセルファイルに変換し、数式により平均値、分散、歪度 (曲線のくぼみ度)、尖度 (曲線のとがり度) の 4 つのモーメントを算出する。そこから相対的変動をシミュレーションし、4 つの分布パターンになる数学的モデルを作成することで様相を精密に分析し、その骨組織代謝能を評価する。

既に術後 4 カ月の画像に対して行った解析では培養骨膜併用群が単峰型、コントロール群が二峰型の様相が認められた (Fig.6)。術後 4 カ月の時点で有意差が生まれているため、本研究でも培養骨膜細胞の骨代謝活性促進効果をさらに裏付ける結果が予想される。また培養骨膜併用移植後のインプラントの安定性が検証できれば、当初の目的である重症歯槽骨萎縮症例に対する骨再生適応の拡大に加えて、歯科インプラント治療の早期終了、ならびに長期安定性を成し得ることが出来る。さらには 2017 年 1 月より開始している「地域再生医療コンソーシアム」により本大学だけではなく、地域の開業歯科医院、病院歯科、また他大学にての施用の導入を推し進めることとなる。いずれにせよ臨床の場において直接患者に恩恵を享受する研究となる。またこの CT 値より数学的モデルを作成する技術は肺野病変評価に使用されており、当研究で 4 つのモーメントの臨床的意義が明らかになれば、他の臓器の評価に応用できる技術となることが期待される。

5. 主な発表論文等 (研究代表者は下線)

〔雑誌論文〕(計件)

- Ogawa S, Hoshina H, Nakata K, Yamada K, Uematsu K, Kawase T, Takagi R, Nagata M. High-Resolution Three-Dimensional Computed Tomography Analysis of the Clinical Efficacy of Cultured Autogenous Periosteal Cells in Sinus Lift Bone

Grafting. *Clin Implant Dent Relat Res.* 18(4):707-16. 2016

〔学会発表〕(計 3 件)

- 小川 信, 星名秀行, 永田昌毅, 勝見祐二, 小林正治, 高木律男: 造成骨生着困難な硬化性下顎骨に対して培養自家骨膜移植を併用して骨造成を行った 1 例. 日本形成外科学会関東支部第 96 回新潟地方会, 新潟市, 2014 年 11 月 27 日.

- 小川 信, 永田昌毅, 星名秀行, 山田一穂, 高木律男: 培養自家骨膜による歯槽骨再生療法の臨床的取り組み. 第 34 回日本口腔インプラント学会近畿・北陸支部学術大会, 京都市, 2015 年 2 月 1 日. 第 34 回日本口腔インプラント学会近畿・北陸支部学術大会プログラム・抄録集 84 頁

- 小川 信, 永田昌毅, 星名秀行, 山田一穂, 勝見祐二, 上松晃也, 高木律男: サイナスリフトにおける培養骨膜細胞の臨床的有効性の高解像度三次元的 CT 分析. 第 60 回公益社団法人日本口腔外科学会総会・学術大会, 名古屋市, 2015 年 10 月 16-18 日. 第 60 回公益社団法人日本口腔外科学会総会・学術大会プログラム・抄録集 154 頁

〔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:
出願年月日:
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 小川 信 (OGAWA, Shin)
新潟大学医歯学総合病院・特任助教

研究者番号： 70624972

(2)研究協力者

〔主たる渡航先の主たる海外共同研究者〕

〔その他の研究協力者〕

永田 昌毅 (NAGATA, Masaki)

中田 光 (NAKATA, Koh)

星名 秀行 (HOSHINA, Hideyuki)

川瀬 智之 (KAWASE, Tomoyuki)

上松 晃也 (UEMATSU, Kohya)