

令和元年6月6日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11806

研究課題名(和文) ヒト乳歯幹細胞を基盤とした新規アンチエイジング機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the novel mechanism to retard the aging by stem cells from human exfoliated deciduous teeth

研究代表者

山座 治義 (Yamaza, Haruyoshi)

九州大学・歯学研究院・准教授

研究者番号：30336151

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題では、脱落乳歯由来幹細胞(stem cells from human exfoliated deciduous teeth; SHED)による新規老化制御機構の解明を目的とする。本研究課題は、従来『捨てる』ものであった乳歯由来の幹細胞を老化研究に応用し、実験動物の平均および最大寿命を延長させる唯一の実験的介入法であるカロリー制限と比較検討することによって、老化制御機構の解明を目指す画期的な発想が基盤となっている。本研究の成果は国内外に大きなインパクトを与えるとともに、アンチエイジング医薬品開発の基盤となりうる事が十分に期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果は国内外に大きなインパクトを与えるとともに、アンチエイジング医薬品開発の基盤となりうる事が十分に期待される。

研究成果の概要(英文)：The objective of this study is to elucidate the novel mechanism to retard the aging by stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED). The idea to compare SHED-injective mice and the mice under caloric restriction, which extends the average and maximum lifespan, is the breakthrough foundation of this study to the novel mechanism for the aging. The outputs of this study could give the impression at home and abroad, and be basis of the drug delivery to retard the aging.

研究分野：小児歯科学

キーワード：乳歯歯髓由来間葉系幹細胞 カロリー制限

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

本邦では、65歳以上の高齢者人口および高齢化率は、平均寿命の延長や低い出生率を反映して今後も上昇を続け、総務省が発表した予測では、平成32年には65歳以上の高齢者が全人口の30%を超えるという本格的な高齢社会が到来するものと見込まれている。このように他の国には類をみない超高齢化社会を迎えるにあたり、医療や介護など年々膨らむ高齢者福祉への費用抑制が急務となり、その対策の一つとして老化制御機構の解明による健康寿命の延長があげられる。

老化は生後直後から始まるともいわれ、回避することができない生命現象である。老化のメカニズムとして、消耗説や神経内分泌説、フリーラジカル説など様々な学説が提唱されているが、詳細については未だ明らかにされていない。カロリー制限は生理的・病的老化現象を遅延させ、平均および最大寿命を延長させる実験的介入法である。その詳細な分子機構は解明されていないが、カロリー制限の寿命延長効果は酵母から哺乳類までの生物種で実証されており、動物種間での老化や寿命を制御する進化論的に保存された機構の存在が示唆されている。また、最近の研究ではカロリー制限が卵子の老化を抑制することが報告され、カロリー制限が生殖年齢の延長にも関与することが示唆された。

研究代表者は、カロリー制限による抗老化・寿命延長機構の解明をインスリンシグナル伝達系を中心に解析を行い、その研究成果は国際雑誌に発表している。幹細胞は自己複製能と多分化能を有する細胞で、個体発生の過程や器官・組織の維持のための細胞供給源であり、骨髄を代表とする様々な器官・組織に存在する。他の研究において、ヒト骨髄由来間葉系幹細胞をハイドロキシアパタイト/リン酸三カルシウム結晶と混合して免疫不全マウスの皮下に移植した結果、異所性に骨および骨髄の新生と、移植したマウスの老化現象の抑制と寿命延長が確認された。また、若年マウス由来骨髄幹細胞の移植により、老齢マウスでの腎臓疾患の抑制が報告されており、老化制御機構に幹細胞が強く関与することを示唆している。

乳歯は永久歯との交換時期に自然脱落して、生体にとって従来は『捨てる』ものであった。その歯髄組織から幹細胞の特徴(自己複製能と多分化能)を有するヒト乳歯幹細胞(stem cells from human exfoliated deciduous teeth: SHED)が単離された。我々は自然脱落したヒト乳歯歯髄を長期保存(2年以上)後、幹細胞の特徴を維持したヒト乳歯幹細胞の単離に成功し、全身性エリテマトーデス(systemic lupus erythematosus; SLE)モデルマウスへヒト乳歯幹細胞を尾静脈より移植した結果、免疫拒絶反応を起こさずに異種動物間でのヒト乳歯幹細胞の生着とSLEに対する治療効果が認められた。また、ヒト乳歯幹細胞を移植したSLEモデルマウスの寿命が延長し、SLEモデルマウスに発症する骨粗鬆症様の骨密度の低下を抑制することができたことから、ヒト乳歯幹細胞移植後に骨髄が賦活化されていることが示唆される。さらに本研究グループでは、SLEモデルマウス尾静脈よりヒト乳歯幹細胞を移植した結果、寿命延長を確認している。

### 2. 研究の目的

SHEDによる新規老化制御機構の解明を目的とする。本研究課題は、従来『捨てる』ものであった乳歯由来の幹細胞を老化研究に応用し、実験動物の平均および最大寿命を延長させる唯一の実験的介入法であるカロリー制限と比較検討することによって、老化制御機構の解明を目指す画期的な発想が基盤となっている。

### 3. 研究の方法

マウスの寿命制御機構の解明を目指すために、SHED投与群、カロリー制限群、対照群の実験動物群を作成して、経時的変化や各種臓器のサンプリングを行う。

### 4. 研究成果

研究代表者の以前の研究により、カロリー制限下におけるマウス、自由摂食のマウスに比べて、平均寿命および最大寿命が有意に延長することは報告しており、経時的なサンプリングを行った臓器を凍結保存している。

SLEモデルマウスのSHEDの静脈内投与により、腎機能の改善と寿命延長を報告したことから、野生型マウスにSHEDを静脈内投与後に長期飼育を行い、SHEDの寿命への影響を検索した。その結果、平均寿命はSHED非投与群に比較して延長していることを確認できつつある。SHED投与群の経時的なサンプリングを同時に行っており、サンプリングした臓器は凍結保存を行っている。

現在、SHEDによる寿命延長効果に関連する遺伝子群やシグナル伝達系の同定するために、カロリー制限下のマウスと比較して、各臓器の遺伝子発現について網羅的解析や酸化ストレスに関連するミトコンドリアの機能解析などを中心に解析を行っているところである。この検索から、マウスの寿命成長機構に関する遺伝子群やシグナル伝達系の同定および解明を目指している。

### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 16件)

Fujiyoshi J, Yamaza H, Sonoda S, Yuniartha R, Ihara K, Nonaka K, Taguchi T, Ohga S, Yamaza T.  
Therapeutic potential of hepatocyte-like-cells converted from stem cells from human exfoliated

deciduous teeth in fulminant Wilson's disease. *Sci Rep*. 2019 Feb 7;9(1):1535. 査読有 . doi: 10.1038/s41598-018-38275-y

Han X, Nonaka K, Kato H, Yamaza H, Sato H, Kifune T, Hirofuji Y, Masuda K. Osteoblastic differentiation improved by bezafibrate-induced mitochondrial biogenesis in deciduous tooth-derived pulp stem cells from a child with Leigh syndrome. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018 Nov 28;17:32-37. 査読有 . doi: 10.1016/j.bbrep.2018.11.003

Zhang Y, Kato H, Sato H, Yamaza H, Hirofuji Y, Han X, Masuda K, Nonaka K. Folic acid-mediated mitochondrial activation for protection against oxidative stress in human dental pulp stem cells derived from deciduous teeth. *Biochem Biophys Res Commun*. 2019 Jan 15;508(3):850-856. 査読有 . doi: 10.1016/j.bbrc.2018.11.169

Tanaka Y, Sonoda S, Yamaza H, Murata S, Nishida K, Hama S, Kyumoto-Nakamura Y, Uehara N, Nonaka K, Kukita T, Yamaza T. Suppression of AKT-mTOR signal pathway enhances osteogenic/dentinogenic capacity of stem cells from apical papilla. *Stem Cell Res Ther*. 2018 Nov 29;9(1):334. 査読有 . doi: 10.1186/s13287-018-1077-9

Yamaza H, Sonoda S, Nonaka K, Kukita T, Yamaza T. Pamidronate decreases bilirubin-impaired cell death and improves dentinogenic dysfunction of stem cells from human deciduous teeth. *Stem Cell Res Ther*. 2018 Nov 8;9(1):303. 査読有 . doi: 10.1186/s13287-018-1042-7

Nguyen HTN, Kato H, Masuda K, Yamaza H, Hirofuji Y, Sato H, Pham TTM, Takayama F, Sakai Y, Ohga S, Taguchi T, Nonaka K. Impaired neurite development associated with mitochondrial dysfunction in dopaminergic neurons differentiated from exfoliated deciduous tooth-derived pulp stem cells of children with autism spectrum disorder. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018 Sep 21;16:24-31. 査読有 . doi: 10.1016/j.bbrep.2018.09.004

Pham TTM, Kato H, Yamaza H, Masuda K, Hirofuji Y, Sato H, Nguyen HTN, Han X, Zhang Y, Taguchi T, Nonaka K. Altered development of dopaminergic neurons differentiated from stem cells from human exfoliated deciduous teeth of a patient with Down syndrome. *BMC Neurol*. 2018 Aug 31;18(1):132. 査読有 . doi: 10.1186/s12883-018-1140-2

Hirofuji S, Hirofuji Y, Kato H, Masuda K, Yamaza H, Sato H, Takayama F, Torio M, Sakai Y, Ohga S, Taguchi T, Nonaka K. Mitochondrial dysfunction in dopaminergic neurons differentiated from exfoliated deciduous tooth-derived pulp stem cells of a child with Rett syndrome. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018 Apr 15;498(4):898-904. 査読有 . doi: 10.1016/j.bbrc.2018.03.077

Sonoda S, Mei YF, Atsuta I, Danjo A, Yamaza H, Hama S, Nishida K, Tang R, Kyumoto-Nakamura Y, Uehara N, Kukita T, Nishimura F, Yamaza T. Exogenous nitric oxide stimulates the odontogenic differentiation of rat dental pulp stem cells. *Sci Rep*. 2018 Feb 21;8(1):3419. 査読有 . doi: 10.1038/s41598-018-21183-6

Yamaza H, Tomoda E, Sonoda S, Nonaka K, Kukita T, Yamaza T. Bilirubin reversibly affects cell death and odontogenic capacity in stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Oral Dis*. 2018 Jul;24(5):809-819. 査読有 . doi: 10.1111/odi.12827

増田 啓次, 山座 治義, 松石 裕美子, 高山 扶美子, 小笠原 貴子, 廣藤 雄太, 緒方 哲朗, 野中 和明, 急性骨髄性白血病に対する初回寛解導入療法が開始された小児に重度の乳歯う蝕を認めた 1 例, 日本障害者歯科学会雑誌, 38, 2, 179-185, 2017.06. 査読有 . [https://www.jstage.jst.go.jp/article/jjsdh/38/2/38\\_179/\\_article/-char/ja/](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jjsdh/38/2/38_179/_article/-char/ja/)

Matsuishi YI, Kato H, Masuda K, Yamaza H, Hirofuji Y, Sato H, Wada H, Kiyoshima T, Nonaka K. Accelerated dentinogenesis by inhibiting the mitochondrial fission factor, dynamin related protein 1. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018 Jan 8;495(2):1655-1660. 査読有 . doi: 10.1016/j.bbrc.2017.12.026

Kato H, Han X, Yamaza H, Masuda K, Hirofuji Y, Sato H, Pham TTM, Taguchi T, Nonaka K. Direct effects of mitochondrial dysfunction on poor bone health in Leigh syndrome. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017 Nov 4;493(1):207-212. 査読有 . doi: 10.1016/j.bbrc.2017.09.045

Kato H, Thi Mai Pham T, Yamaza H, Masuda K, Hirofuji Y, Han X, Sato H, Taguchi T, Nonaka K. Mitochondria Regulate the Differentiation of Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth. *Cell Struct Funct*. 2017 Aug 19;42(2):105-116. 査読有 . doi: 10.1247/csf.17012

Sato H, Kato H, Yamaza H, Masuda K, Nguyen HT, Pham TT, Han X, Hirofuji Y, Nonaka K. Engineering of Systematic Elimination of a Targeted Chromosome in Human Cells. *Biomed Res Int*. 2017;2017:6037159. 査読有 . doi: 10.1155/2017/6037159

Fang J, Yamaza H, Uchiumi T, Hoshino Y, Masuda K, Hirofuji Y, Wagener FA, Kang D, Nonaka K. Dihydroorotate dehydrogenase depletion hampers mitochondrial function and osteogenic differentiation in osteoblasts. *Eur J Oral Sci*. 2016 Jun;124(3):241-5. 査読有 . doi: 10.1111/eos.12270

[学会発表](計 19件)

Haruyoshi Yamaza, Bilirubin reversibly affects cell death and odontogenic capacity of SHED, ASCB|EMBO 2018 meeting, 2018.12.

高山扶美子,山座治義,小笠原貴子,野中和明, 歯の早期脱落から低ホスファターゼ症の診断に至った 1 例, 第 36 回日本小児歯科学会九州地方会および総会, 2018.10.

廣藤早紀、高山扶美子、山座治義、野中和明、造血幹細胞移植前の Fanconi 貧血の患児に対する歯科的アプローチに関する 1 例、第 36 回日本小児歯科学会九州地方会および総会、2018.10.

山座治義、野中和明、乳歯歯髓由来幹細胞におけるビリルビンの可逆的影響、第 56 回日本小児歯科学会大会、2018.05.

韓旭、加藤大樹、山座治義、増田啓次、廣藤雄太、野中和明、ヒト脱落乳歯由来幹細胞を活性化したミトコンドリア病の病態解明、第 56 回日本小児歯科学会大会、2018.05.

高山扶美子、増田啓次、山座治義、小笠原貴子、廣藤雄太、廣藤早紀、野中和明、下顎左側乳臼歯部歯牙腫と上顎左側乳臼歯部歯根嚢胞を併発した 1 例、第 56 回日本小児歯科学会大会、2018.05.

木船敏郎、増田啓次、山座治義、廣藤雄太、野中和明、9 歳臼についての検討、第 35 回日本小児歯科学会九州地方会大会、2017.11.

林 花凜、小笠原貴子、山座治義、増田啓次、野中和明、腫瘍崩壊症候群を合併した急性骨髄性白血病の患児に全身麻酔下歯科治療を行った 1 例、第 34 回日本小児歯科学会九州地方会、2017.10.

小笠原貴子、増田啓次、山座治義、野中和明、萌出遅延により埋伏した下顎左側第一大臼歯の象牙質に侵襲したエックス線透過性病変を認めた 1 例、第 34 回日本小児歯科学会九州地方会、2017.10.

山座治義、全身の健康はお口から、第 14 回 市民公開講座、2017.08.

松石裕美子、小笠原貴子、山座治義、増田啓次、野中和明、上顎右側乳中切歯部に発生したエナメル上皮線維象牙質腫の 1 例、第 55 回日本小児歯科学会大会、2017.05.

木船敏郎、増田啓次、山座治義、廣藤雄太、野中和明、トモシンセシスを使った上顎の即時混合歯列分析、第 55 回日本小児歯科学会大会、2017.05.

Pham TMT, Kato H, Yamaza H, Masuda K, Hirofujii Y, Nguyen TNH, Sato H, Taguchi T, Nonaka K., Implication of Dopaminergic Neurodevelopment in the Pathophysiology of Down Syndrome. Gordon Research Conference. Dendrites: Molecules, Structure & Function, 2017.03.

Kato H, Pham TMT, Han X, Yamaza H, Masuda K, Hirofujii Y, Sato H, Nonaka K, Requirement of mitochondrial activity for neuronal differentiation of stem cells from exfoliated deciduous teeth., USA Japan Research Institute, 2016.09.

Yamaza H, Kato H, Han X, Sato H, Pham TMT, Hirofujii Y, Masuda K, Nonaka K, Biological relationship between mitochondrial function and osteogenesis., Gordon Research Conference, Musculoskeletal Biology & Bioengineering, 2016.08.

山座孝義、山座治義、園田聡一郎、友田恵利佳、田中陽介、上原範久、久本由香里、野中和明、久木田敏夫、口唇口蓋裂患児由来乳歯幹細胞の解析、第 58 回歯科基礎医学学会学術大会、2016.08.

友田恵利佳、山座孝義、山座治義、田中陽介、園田聡一郎、野中和明、久木田敏夫、ヒト乳歯幹細胞におけるビリルビン添加による細胞生存への影響、第 58 回歯科基礎医学学会学術大会、2016.08.

Yuta Hirofujii, Kazuaki Nonaka, Haruyoshi Yamaza, The Role of Mitochondria RNA protein in Drosophila Melanogaster., 10th Biennial Conference of the Pediatric Dentistry Association of Asia in conjunction with 54th Annual Conference of the Japanese Society of Pediatric Dentistry, 2016.05.

Toshiro Kifune, Keiji Masuda, Haruyoshi Yamaza, Kazuaki Nonaka, Prediction of Maxillary Canine and Premolar Width using Tomosynthesis Panoramic Radiograph., 10th Biennial Conference of the Pediatric Dentistry Association of Asia in conjunction with 54th Annual Conference of the Japanese Society of Pediatric Dentistry, 2016.05.

〔図書〕(計 2 件)

山座治義、野中和明、小児歯科学第 5 版、医歯薬出版株式会社、第 2 編 第 2 章 IV「小児の生理的発達」p24-26 V「小児の栄養」p26-32 第 6 編 第 1 9 章 I-6「Treacher-Collins 症候群」p396-397、2017.12.

山座治義、野中和明、小児科 8 月増刊号、金原出版株式会社、III 章 歯 44 歯並び・歯ぎしり pp1088 - pp1094、2017.08.

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

○取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：山座 孝義

ローマ字氏名：(YAMAZA, Takayoshi)

所属研究機関名：九州大学

部局名：歯学研究院

職名：准教授

研究者番号（8桁）：80304814

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。