

令和 5 年 5 月 14 日現在

機関番号：32653

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2022

課題番号：18K09623

研究課題名(和文) 歯周組織の機能を有する次世代型インプラントの開発

研究課題名(英文) Development of Dental Implants with Functional Periodontal Tissue

研究代表者

鷲尾 薫 (WASHIO, Kaoru)

東京女子医科大学・医学部・非常勤講師

研究者番号：50514486

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)：本研究では歯科インプラントの改良を目的とし、歯根膜細胞シートをチタンインプラント体と一緒に埋入した結果、インプラント体周囲に部分的に歯周組織様組織が形成され、その構造は最長50週間維持されたことが組織学的に観察された。一方、新生組織は部分的で、インプラントの動揺度は天然歯よりも大きく、移植に成功したインプラントは9本中4本であったことから、更なる改良を求め、細胞シートの培養条件を模索している。さらに、細胞シートがチタンへ生着しやすいことを他の疾患へ応用すべく、MRONJ(薬剤投与による顎骨壊死)への治療法である顎骨再建術へ細胞シートを併用したところ、術後の炎症が抑制されることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歯科治療においてインプラント周囲炎はその埋入後5～10年で約半数の患者に惹起される症状であると言われ、根本的解決策の開発が喫緊の問題となっている。そこで、歯根膜由来細胞シートをインプラント体周囲に付着させることで、歯周組織のような免疫応答や咬合力緩衝能を持たせる方法を検討した。本研究結果より、約50週間炎症なく保たれたことから、移植後も細胞はその機能を周囲細胞へ影響させていることが推察され、人体への有害性が少ない治療法の開発の一步となったと考える。まだ多くの点で検討が必要ではあるが、これらがクリアされた場合はインプラント周囲炎に苦しむ患者を減らすことができ、社会的意義も大きいと考える。

研究成果の概要(英文)：In this study, new type of dental implants with periodontal ligament-derived cell sheet have been developed to conquer peri-implantitis. The method was able to induce tissue similar to periodontal ligament on the implant surface partially. Histological observation showed that the newly formed tissue was maintained on the titanium surface even after 50-week transplantation. Four of nine implants with cell sheets were able to be transplanted for long-term, but their degree of mobility was larger than that of native teeth. As next strategy, we are focusing on culture condition of cell sheet to obtain the stability of transplanted implant. And more, we are considering applying this technology to the treatment of MRONJ for the purpose of inflammation control.

研究分野：歯周病学分野

キーワード：細胞シート チタン インプラント 歯周組織再生

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

歯科治療においてインプラント周囲炎はその埋入後 5 年から 10 年で約半数の患者に惹起される症状であると言われ、社会的問題となっており、根本的解決策の開発が喫緊の問題となっている。これまで本学では天然歯周囲に見られる歯周組織様構造および機能をインプラント体周囲に細胞シートを用いて構築させインプラント周囲炎の発症を抑制させる治療法の開発の検討を重ねてきた。本研究開始前にすでに表面加工したチタンインプラント体周囲に部分的ではあるが歯周組織様構造を構築可能であることを示してきた。しかしながら、臨床応用を目指すには新生組織を広範に形成させることが必要と考え、長期移植の検討および細胞が長期的にチタン表面へ接着しやすい培養条件の開発が必要と考えられた。

2. 研究の目的

細胞シートを付着させたチタンインプラントを口腔内に長期間とどめることが可能であるかを検討することを第一の目的とした。さらにインプラント体をより高確率で顎骨内へ固定させるため早急にセメント質形成を誘導させる培養条件を検討した。また、これまで蓄積してきた細胞シートを用いたチタン・細胞接着の考え方を応用して、顎骨壊死治療で埋入するチタンプレートに細胞シートを付着させることで炎症を抑制させる方法についても模索を行った。

3. 研究の方法

インプラント細胞シート複合体の長期移植検討については、麻酔下にてイヌ顎骨に欠損を作成後、チタンインプラント・イヌ歯根膜細胞シート複合体を移植して、可能な限り長期間移植を行い、経過観察および組織学的観察を行った (N=2)。具体的にはインプラント体は細胞シートを接着しやすくする条件で表面処理を行い、ねじ切りのない棒状の形態のものを使用した。移植インプラントが 15 週以上定着できたものについては、歯冠側へアバットメントを装着させて口腔内へ突き出した状態にし、専用の機器にて動揺度を定期的に計測することでインプラント体の生着程度を数値的に評価した。組織学的観察は樹脂包埋後、ヴィラヌエヴァゴールドナー染色を行い、骨組織と線維性組織を染め分け、歯根膜様線維性組織の走行を観察した。

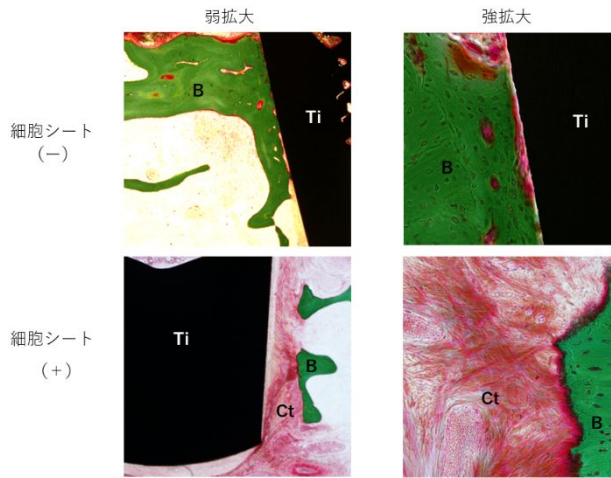
インプラント体上に新生組織を効率的に形成誘導させるために、細胞シートを作成時に添加していた試薬をアスコルビン酸のみに変更して培養し従来法と比較した。象牙質と同程度のハイドロキシアパタイトを含むペレットと共にヌードラット背部皮下へ移植し、約 6 週間移植を行い、細胞由来の新生組織について組織学的に観察し培養条件を変えることで変化が見られるか比較検討した。コロナ禍の影響にて臨床にてプライマリーの歯根膜細胞を入手することが困難な時期であったため、細胞は購入したヒト歯根膜由来細胞を用いた。

さらに、ラット顎骨壊死モデルを用いて、チタンプレート上に骨髄由来細胞シートを付着させ 7 週間移植後、組織学的観察および μ CT を用いた骨形態計測を行い、対照群と比較を行うことで細胞シートの有効性を確認した。

4. 研究成果

4 - 1. イヌ顎骨モデルへのチタンインプラント体・歯根膜細胞シート複合体長期移植

チタンインプラント体および細胞シートを約 15 週間移植し、その後、アバットメントを装着させた状態でも長期移植可能であり、最長 50 週間の移植でも炎症が惹起されず顎骨内にとどまった。インプラント埋入の方向や顎骨欠損サイズによって生着の可否が左右されたが、9 本中 4 本についてアバットメントを装着させ、口腔内に維持させることに成功した。アバットメント装着後、口腔内から麻酔下にて測定機器 (ペリオテスト®) を用いた動揺度計測を行った結果、イヌ天然歯の犬歯が動揺度 3 程度であったのに対し、アバットメントを装着させたインプラント体は 10 ~ 25 程度であり、やや動揺がみられるが顎骨内に維持されている状態であることが確認された。本検討において動揺度が 35 を超えた後にインプラント体が脱落することを確認している。50 週間の移植後、組織学的観察を行った結果、これまで 4 週間程度で観察されていた組織像と同様の組織像が観察された (短期移植の結果については Washio et al., Tissue Engineering Part A, 2018 参照)。細胞シートを付着させた群では 50 週間が経過してもチタン (下図 Ti) と顎骨 (下図 B) の間に歯周組織様構造 (下図 Ct) が認められ、部分的ではあるが、顎骨から細胞シート由来の組織層へ向かって線維性組織が走行する様子も観察された。一方でインプラント体のみ移植した対照群ではインプラント体と顎骨が直接結合するオッセオインテグレーションが認められた。



4 - 2 歯根膜細胞シート培養条件検討

以上の結果より、細胞シートを用いてインプラント体を顎骨内に維持させることは可能であったが、天然歯程度の動揺度を維持させるには、インプラント体と周囲組織間に一定以上の結合が必要であると考えられた。そこで、歯根膜細胞シートからセメント質をより多く新生させ、インプラント体表面へ直接接着させるべく、培養液に添加していた試薬のうち、アスコルビン酸のみ添加させたものと従来の培養液で比較検討した。その結果、従来の条件ではハイドロキシアパタイト片周囲に厚みのある線維性組織層がみられたが、アスコルビン酸のみに変更した場合には線維性組織層の厚みは減少し、脂肪細胞へ分化する傾向が見られた。脂肪化については皮下組織下へ移植したためと考えられた。また、購入した細胞の分化誘導能を確認したところ、初期培養で得られる歯根膜由来細胞よりもコロニー形成能が低く、石灰化能も低いことも示され、細胞を得られなかったことから予測から離れた結果になったと推測された。

4 - 3 細胞シートとチタンの融合を応用した検討

以上のように間葉系幹細胞の性質を持つヒト歯根膜由来細胞を得ることが難しい状態が続いたため、入手しやすいヒト骨髄由来間葉系幹細胞に着目し、チタンと細胞シートを合わせた技術を応用させる方法を模索した。ラットへ薬剤投与を行い顎骨壊死モデル作成後、チタンプレートとラット骨髄由来幹細胞を7週間移植した結果、細胞シート移植群は非細胞シート移植群に比べ骨量に変化があることを μ CT解析にて、さらに骨壊死領域の割合が減少傾向にあることが組織学的観察にて確認された。今後再現性を確認し臨床応用へ向けた検討を行いつつ、インプラント体へ骨髄由来幹細胞シートを用いることで炎症を長期的に予防する方法について検討を行う。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kaoru Washio, Isao Ishikawa, Kosei Yano, Kengo Iwasaki and Yuuka Tumanuma	4. 巻 1
2. 論文標題 Innovative Potential of Periodontal Ligament Cell Sheet Engineering in Functional Implant Therapy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Innovation in Tissue Engineering & C Regenerative Medicine	6. 最初と最後の頁 1-4
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 オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 西巻 和広、貝淵 信之、鷺尾 薫、大和 雅之
2. 発表標題 チタン材料留置による薬剤性顎骨壊死モデルに対する間葉系間質細胞シート治療の検討
3. 学会等名 第22回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2023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
---------------------------	-----------------------	----

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