

令和 3 年 6 月 2 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09662

研究課題名(和文) 薬剤関連顎骨壊死の治療と予防を目指した間葉系幹細胞の新規投与法

研究課題名(英文) Treatment and prevention of ARONJ with MSC application

研究代表者

熱田 生 (ATSUTA, IKIRU)

九州大学・歯学研究院・准教授

研究者番号：30423487

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)：間葉系幹細胞(mesenchymal stem cell: MSC)は優れた増殖能、分化能、細胞制御能を有しており、組織、臓器における再生治療や様々な疾患に対する細胞治療のデバイスとして大きな可能性を有している。薬剤関連顎骨壊死(medication-related osteonecrosis of the jaw: MRONJ)モデルを用いた過去の実験では、MSCの経静脈投与により抜歯後の治癒不全や多臓器に認める炎症の改善が報告されている。本研究では、上記のようにMSCが病態を改善させる治療メカニズムについてMRONJ様モデルを用いて解析することとした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究ではMRONJの治療に用いたMSCであるが、リュウマチや強皮症などの自己免疫疾患のような過剰な免疫作用(Yamaza 2010; Ruili 2011)、さらには癌の細胞増殖抑制など広い臨床応用が期待される(Atsuta 2013)。幹細胞治療は薬物治療のような大きな副作用もなく継続した効果が期待できる(Miura 2010, Akiyama 2012)が、治療効果のバラツキは臨床応用への大きな壁といえる。本研究はこの「バラツキ」をテーマにしたものであり幹細胞研究にとって重要な結果をもたらすと確信している。

研究成果の概要(英文)：Mesenchymal stem cells (MSCs) has excellent proliferative ability, differentiation ability, and cell control ability, and has great potential as a device for regenerative therapy in tissues and organs and cell therapy for various diseases. In previous experiments using a medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ)-like mice model, intravenous administration of MSCs has been reported to improve healing failure after tooth extraction and inflammation observed in multiple organs. In this study, we show that aspirin enhances the therapeutic effect of MSCs on MRONJ.

研究分野：歯科補綴学

キーワード：間葉系幹細胞 薬剤関連顎骨壊死 細胞治療 アスピリン

1. 研究開始当初の背景

薬剤関連顎骨壊死 (MRONJ) に対する確実な治療法は未だ見つかっておらず、現在も外科的な腐骨除去や、洗浄、投薬による対処療法と該当薬の投与中断による予防のみである。過去の研究で我々は幹細胞を用い、動物実験でその高い効果を示している (Atsuta 2013; Matsuura 2016)。しかし臨床応用に向けては、幹細胞の適切な投与量や投与のタイミング、投与回数や局所/全身などの投与方法なども定まっておらず、さらには疾患の状態や宿主の健康状態にも影響をうけるため治療結果のバラツキは避けられない。そこで①採取された間葉系幹細胞 (MSC) の能力を一定以上に高める、そして②スキャフォールドを使用した「バンキング」という新規概念を取り入れて臨床応用を目指すこととした。これらは細胞治療をより確実なものにする画期的な発想である。

2. 研究の目的

幹細胞研究において、どうしてもその効果にはバラツキが生じる。例えある病態に対する細胞治療の成功率が非常に高かったとしても、一部の症例で治療効果が無いどころか症状を悪化させることがあっては、臨床応用は困難となってしまう。本研究では、この幹細胞治療で生じる”バラツキを抑える”ことである。たとえどのような優れた薬剤であっても用法がおよび用量が決まっているように、幹細胞治療として投与する細胞数を症例にあわせてコントロールし、副作用の無い安全な幹細胞治療を目指すものである。

3. 研究の方法

本研究は幹細胞により安定した治療効果を提供することを目指すことである。すなわち実験 a) 疾患モデルから幹細胞を採取し、幹細胞の性質変化と治療効果への影響を評価した。実験 b) 前述の幹細胞が性質変化しているとすれば、それを治療するために正常な MSC 処理または薬物 (アスピリン) 処理を施しその効果を観察した。実験 c) 投与量・回数をコントロールするため「バンキング」の概念を実施し、その効果を確認した。

4. 研究成果

研究成果 1 : 疾患モデルから採取された幹細胞の異常性を評価

MSCの「異常化」を証明するため3つのStemnessを評価した。

→ 上記条件から採取したMSCに対しStemnessの低下を確認

「異常化」を示唆

異常化MSCにより治療効果が低下することを確認

異常化MSCを炎症モデルマウスに全身的投与し効果を評価

- ・ 使用した実験モデル

MRONJ (薬剤関連顎骨壊死) モデル (5 週齢 B6/6J マウス)

→ zoledronate を腹腔内投与 (2 回/週・3 週間)

約 80% のモデルに MRONJ 発症 (Zhang 2010; Atsuta 2013)

MSC の注入

マウスの尾静脈より各種 MSC 注入 (7 週齢 (抜歯 1 週後で上記条件を満たしたもの))

研究成果 2 : 異常化幹細胞を細胞レベルで治療

幹細胞に対するアスピリン処理効果

- ・ 幹細胞の採取

試験群) MRONJ 患者由来の「異常化」MSC

対照群) 抜歯時など健常患者由来の「正常化」MSC

- ・ アスピリン効果の評価方法 (2M アスピリンを 1 日投与 (Domhan 2004; Shi 2008 濃度決定))

培養実験: MSC 分化能の比較

→ 培養液中にアスピリンを添加すると個体差無く一定レベルの分化能を獲得

動物実験: 炎症モデルの治療能力比較

→ アスピリン処理された MSC の全身投与で局所に集積し消炎効果を発揮した

研究成果 3 : 治療済幹細胞を投与

MSC の投与に関して「Cell Banking」という概念に基づき新たな方法を用いた。すなわちスキャフォールドにて三次元培養した MSC を腹腔内に投与・保管し、創傷部の MSC 誘引因子の作用に任せて適切な細胞数を適切なタイミングで送り込むこととした。

治療効果の評価方法

- ・ 培養実験: 熱可塑性スキャフォールド内で MSC (1.0×10^6 個) を 3 日培養

- ・ 動物実験: 炎症モデルマウス腹腔内に移植

MSC の集積と治療能力を評価

→ 炎症状態減少を確認

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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	古谷野 潔 (KOYANO KIYOSHI) (50195872)	九州大学・歯学研究院・教授 (17102)	
研究分担者	鮎川 保則 (AYUKAWA YASUNORI) (50304697)	九州大学・歯学研究院・准教授 (17102)	

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