

平成21年3月16日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007～2008

課題番号：19390515

研究課題名（和文） 自己由来細胞組み込み型新規人工再生粘膜の開発  
～完全なる口腔粘膜再生を目指して～

研究課題名（英文） Development of newly artificial regenerated oral mucous membrane

研究代表者

古森 孝英（KOMORI TAKAHIDE）

神戸大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：50251294

研究成果の概要：

本研究では、現在までに得られた様々な知見をもとに人工粘膜下組織の開発を行い、現在までに作製・臨床応用を行っている人工培養口腔粘膜に組み込むことで、完全に患者自身の細胞成分のみから成る倫理面・安全面においてより完璧な人工口腔粘膜の開発を行うことを目的としている。われわれはこれまでに、人工粘膜下組織開発の一環として、独自の手法にて作製・臨床応用してきた人工口腔粘膜移植後の創傷治癒過程について、成熟した上皮と同等の機能を営んでいることを明らかにした。粘膜下組織として導入する材料については、現在すでに臨床の場で用いられている生分解性の高分子材料をはじめとして、口腔粘膜という軟組織を構築するにふさわしい弾性や耐久力、操作性を兼ね備えた生体材料の研究および開発を行ってきた。その結果、開発したいくつかの最適な生体材料に、最適な細胞微小環境となるべき基底膜を組み込むため、従来の研究手法にさらに、細胞工学的な手法を加えて人工粘膜下組織を開発・完成させ、それを従来までにわれわれが行っている手法に導入することで、完全患者由来成分のみを用いた人工粘膜の再生を本研究の最終目標とする。

現在は、従来までの手法を踏襲することで、口腔粘膜組織より上皮細胞成分を単離し、最適な生体材料への組み込みを行い、組み込まれた細胞成分の活性等について生化学的な分析を行い、経時的に生体組織の一部として機能していることを明らかにした。

今回の研究結果から得られた成果は、患者自身の細胞のみによる口腔粘膜再生に大きく寄与するものと考えられている。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2008年度	3,700,000	1,110,000	4,810,000
年度			
年度			
年度			
総計	6,200,000	1,860,000	8,060,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：人工口腔粘膜、組織再生、自己由来細胞、組織工学的手法

## 1. 研究開始当初の背景

歯科、口腔外科、顎顔面外科の臨床において、口腔粘膜欠損に対して、従来より植皮や人工材料で修復がなされてきたが、いずれの手法も必ずしも満足いく結果が得られていないのが現状であった。これらの問題点を解決すべく、われわれは患者自身より採取したいわゆる自己口腔粘膜上皮と無細胞真皮マトリックス（ヒト無細胞性新鮮屍体真皮）から人工培養口腔粘膜を作製し、その生物学的特性や優れた臨床成績について報告してきた。さらにわれわれは、これまでに報告してきた方法に改良を加え **feeder layer** と動物由来タンパクを全く使用しない **animal-product-free culture medium** による上皮細胞培養方法を確立した。

## 2. 研究の目的

上記の研究において無細胞真皮マトリックス（ヒト無細胞性新鮮屍体真皮）においては、未知の病原体の存在が完全に否定できず、また倫理的な問題も残るのが現状である。そこでわれわれは、培養口腔粘膜上皮細胞の粘膜下組織はやはり口腔組織由来のものであることが望ましいとの観点から、無細胞真皮マトリックス（ヒト無細胞性新鮮屍体真皮）の代替でき得る材料として新しい人工粘膜下組織を導入し、完全に患者自身の細胞成分のみから成る人工口腔粘膜の開発を本研究の目的とした。

## 3. 研究の方法

人工粘膜下組織開発の一環として、独自の手法にて作製・臨床応用してきた人工口腔粘膜移植後の創傷治癒過程についての細胞機能の解析を行った。粘膜下組織として導入する材料については、現在すでに臨床の場で用いられている生分解性の高分子材料をはじめとして、口腔粘膜という軟組織を構築するにふさわしい弾性や耐久力、操作性を兼ね備えた生体材料の分子生物学的、生化学的、電子顕微鏡レベルでの比較、検討、研究および開発を行ってきた。

## 4. 研究成果

上記方法にていくつかの最適な生体材料を選択、開発した。これに最適な細胞微小環境

となるべき基底膜を組み込むため、従来の研究手法にさらに、細胞工学的な手法を加えて人工粘膜下組織を開発・完成させ、それを従来までにわれわれが行っている手法に導入することで、完全患者由来成分のみを用いた人工粘膜の再生に一定の成果を得た。

現在は、従来までの手法を踏襲することで、口腔粘膜組織より上皮細胞成分を単離し、最適な生体材料への組み込みを行い、組み込まれた細胞成分の活性等について生化学的な分析を行い、経時的に生体組織の一部として機能していることを明らかにした。

## 5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 9 件）

① Hirokazu Yutori, Shuho Semba, Takahide Komori, Hiroshi Yokozaki. Restoration of fragile *chk2* expression restores *chk2* activity in response to ionizing radiation in oral squamous cell carcinoma cells. 99 524-530 2008 査読有

② Umeda M, Komatsubara H, Shigeta T, Ojima Y, Minamikawa T, Shibuya Y, Yokoo S, Komori T. Treatment and prognosis of malignant melanoma of oral cavity: preoperative surgical procedure increase risk of distant metastasis. 106 51-57 2008 査読有

③ 芳澤亨子、泉健次、飯田明彦、鈴木一郎、齊藤力、高木律男、寺師浩人、横尾聡、古森孝英、津野宏彰、古田勲. 培養複合口腔粘膜（EVPOME）の口腔癌治療への応用. 再生医療 6 203-208 2008 査読有

④ 田中信生、日和千秋、井元俊之、安達泰治、北條正樹、馬場俊輔. 編物構造複合材料の再生医療用スカフォールドへの適用(I)－生分解樹脂による織物構造複合材料の開発－材料システム 26 79-88 2008 査読有

⑤ 日和千秋、沖添晃政、中井善一、田中信生、北條正樹、安達泰治、馬場俊輔. 編物構造複合材料の再生医療用スカフォールドへの適用(II)－マウス骨芽細胞様細胞による骨組織形成過程－材料システム 26 89-95

2008 査読有

⑥ 日和千秋、横田久美子、中井善一、田中信生、井元俊之、安達泰治、北條正樹、馬場俊輔. 3次元編み構造からなる生分解性複合材料スカフォールドの力学的特性と生分解性特性の評価 材料 57 868-874 2008 査読有

⑦ Masago H, Shibuya Y, Munemoto S, Takeuchi J, Umeda M, Kuboki Y, Komori T. Alveolar ridge augmentation using various bone supplements -A web form of titanium fibers promotes the rapid bone development-. 53 257-263 2007 査読有

⑧ Hotta T, Yokoo S, Terashi H, Komori T. Clinical and histopathological analysis of healing process of intraoral reconstruction with ex vivo produced ral mucosa equivalent. Kobe J Med Sci 53 1-14 2007

⑨ Sakurai A, Hashikawa K, Yokoo S, Terashi H, Tahara S. Simple dressing technique using polyurethane foam for fixation of skin grafts. Dermatol Surg 33 976-979 2007

[学会発表] (計9件)

① 横田久美子、日和千秋、中井善一、田中信生、安達泰治、北條正樹. 三次元織複合材料スカフォールドの開発と機能評価 日本材料学会 JCOM37 講演会 2008. 3. 18-19 京都

② 日和千秋、横田久美子、中井善一、田中信生、井元俊之、安達泰治、北條正樹. 三次元織り構造の複合材料によるスカフォールドのマウスの骨芽細胞様細胞の増殖性 第29回日本バイオマテリアル学会大会講演会 2007. 11. 26-27 大阪

③ 田中信生、日和千秋、井元俊之、安達泰治、北條正樹. 3次元織構造からなる生分解性樹脂複合材料スカフォールドの生分解過程における力学的変化 第29回日本バイオマテリアル学会大会講演会 2007. 11. 26-27 大阪

④ 日和千秋、竹之内克彦、中井善一、田中信生、安達泰治、北條正樹. 異なるバインダー樹脂を用いた PLLA 繊維複合材料の生分解特性の検討 日本機械学会 M&M2007 材料力学カンファレンス 2007. 10. 24-26 東京

⑤ Yokoo S, Terashi H, Kuroki S, Komori T. Comparison of healing process following ex vivo produced oral mucosa equivalent

transplantation and artificial dermis transplantation: influence of keratinocytes on biological events in lamina propria. American association of oral and maxillofacial surgeons. 89<sup>th</sup> annual meeting 2007.10.8-13 Honolulu

⑥ Kuroki S, Yokoo S, Terashi H, Komori T. Epithelization in oral mucous wound healing in terms of energy metabolism. American association of oral and maxillofacial surgeons. 89<sup>th</sup> annual meeting 2007.10.8-13 Honolulu

⑦ 田中信生、日和千秋、井元俊之、安達泰治、北條正樹. 3次元構造からなる生分解性樹脂複合材料スカフォールドの力学的特性と生分解性特性評価 日本材料学会第56期通常総会 2007. 5. 19-20 名古屋

⑧ 日和千秋、横田久美子、中井善一、田中信生、井元俊之、安達泰治、北條正樹、馬場俊輔. 三次元構造からなる生分解性複合材料スカフォールドのマウス骨芽細胞様細胞での in vitro における細胞増殖性 日本材料学会第56期通常総会 2007. 5. 19-20 名古屋

⑨ 堀田武司、横尾聡、高田直樹、黒木信祐、尾島泰公、寺師浩人、古森孝英. 培養複合口腔粘膜移植と人工真皮移植の創傷治癒過程比較-keratinocyteが上皮下組織の biological event に与える影響- 日本口腔科学会 2007. 4. 19-20 神戸

[産業財産権]

○出願状況 (計1件)

名称: 積層構造三次元スカフォールドとその作成方法

発明者: 日和千秋

権利者: 神戸大学

種類: 特願

番号: 2007-156562

出願年月日: 2007年6月13日

国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

古森 孝英 (KOMORI TAKAHIDE)

神戸大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号: 50251294

(2) 研究分担者

横尾 聡 (YOKOO SATOSHI)

群馬大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：00322206

寺師 浩人 (TERASHI HIROTO)  
神戸大学・大学院医学研究科・准教授  
研究者番号：80217421

尾島 泰公 (OJIMA YASUTAKA)  
神戸大学・大学院医学研究科・医員  
研究者番号：40403240

日和 千秋 (HIWA CHIAKI)  
神戸大学・大学院自然科学研究科・助教  
研究者番号：80294198

(3)連携研究者  
なし