

平成 22 年 5 月 1 日現在

研究種目： 若手研究(B)
 研究期間： 2007 ～ 2009
 課題番号： 19791505
 研究課題名（和文） 間葉系幹細胞とナノテクノロジー 3次元マトリックスを用いた骨再生療法の開発
 研究課題名（英） Self-Assembling Peptide Nanofiber Scaffolds, Platelet Rich Plasma, and Mesenchymal Stem Cells for Injectable Bone Regeneration with Tissue Engineering
 研究代表者 伊藤 憲治 (Kenji Ito)
 名古屋大学・医学部附属病院・病院助教
 研究者番号：50402623

研究成果の概要（和文）：現在、自己細胞を用いて低侵襲で免疫拒絶のない再生医療が移植医療に変わり注目されてきている。再生医療は細胞(cell)、足場(scaffold)、生理活性物質(growth factor)という3要素により組織再生を行う医療であり、特に骨再生において生体親和性の高い人工材料を足場とした再生療法が盛んに行われてきた。本研究はナノテクノロジー 3次元マトリックスを足場として用いた骨再生療法を検討し優れた骨形成を認めた。従って本マトリックスによる3次元構造は組織工学的手法による骨再生法において足場として有用であり、効果的な骨代替材料として機能することが示唆された。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to investigate a capability of 3D PuraMatrix™ (PM), which is a self-assembling peptide nanomaterial, as a scaffold for bone regeneration in combination with dog mesenchymal stem cells (dMSCs) and/or platelet-rich plasma (PRP) using tissue engineering and regenerative medicine (TERM) technology. This report showed that MSCs might keep their own potential and promote new bone regeneration in the three-dimensional structure by PM scaffolds. Taken together, it is suggested that PM might be useful as a scaffold of bone regeneration in cell therapy, and these results might lead to an effective treatment method for bone defects.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,200,000	0	1,200,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	600,000	3,800,000

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：未分化間葉系幹細胞、ナノ材料
再生医学、3Dマトリックス、骨再生療法

1. 研究開始当初の背景

腫瘍切除後、先天性奇形、外傷などにより骨欠損が生じた場合、主に自家骨移植が行われてきたが、採取量の制限やドナーサイトへの侵襲、移植部位への整形性が難しいなど多くの問題を抱えてきた。そのため、代替材料として他家骨由来の移植材や人工材料などが応用されてきたが、形態付与性や吸収の遅延による細菌感染、炎症反応など未解決な点も多い。近年、様々な問題を解決するため組織工学的的手法を用いた骨再生法に注目が集まり、臨床においてもその成果が報告されている。組織工学は細胞、成長因子、足場の3要素から成り、これまで足場材料において様々な検討が行われてきた。しかし、前述した問題点は十分には解決されておらず、いまだ理想的な材料は見つかっていない。足場材料が満たすべき理想的な条件として、易吸収性、形態賦与性をもつだけでなくさらに生体内の組織を構成する細胞外マトリックス (ECM) に類似した3次元構造を構築することが足場として有用であると検討され始めた。

2. 研究の目的

今日、ナノテクノロジーを応用した新規3次元足場材料PuraMatrix (PM, 3DMatrix社、Japan) が、細胞外マトリックス (ECM) に類似した構造を兼ね備え、足場として有用であるとして注目されている。そこで本研究では、新規材料 (PM) の、組織工学的的手法を用いた骨再生法における足場としての可能性について検討した。

3. 研究の方法

マトリックスの有効性、安全性を骨欠損モデルを用いて検討した。具体的にはハイブリッド犬の下顎骨に顎骨欠損モデルを作製し、欠損のみをコントロール、PM、PMと多血小板血漿 (PRP) (PM/PRP)、PMとイヌ骨髄由来間葉系幹細胞 (dMSCs) (PM/dMSCs)、PMとdMSCsとPRP (PM/dMSCs/PRP) の4種類を実験群として、移植を行った。移植後2、4、8週後にX線撮影及び試料採取を行い、組織学的・組織形態計測的評価を行った。

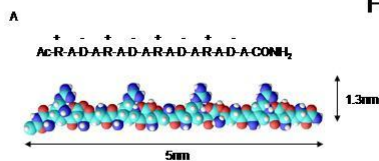


Fig 1

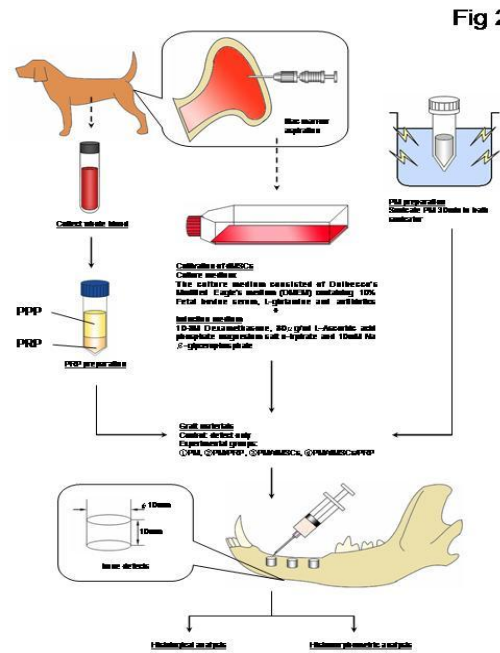


Fig 2

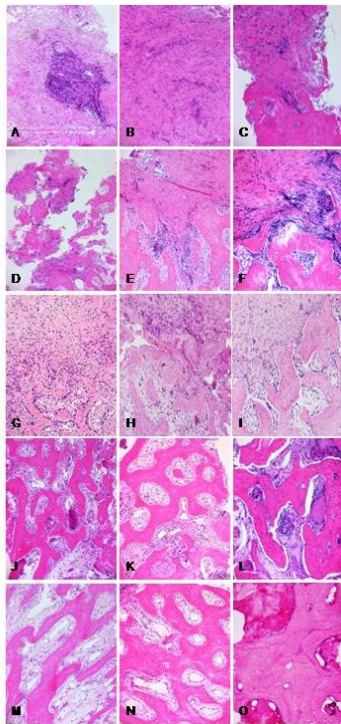
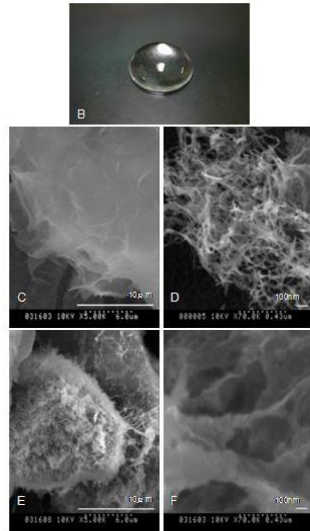
4. 研究成果

組織学的所見より、PM/dMSCs/PRPでは特に良好な骨形成が認められ、骨の成熟度も早期に観察された。骨占有率でもPM/dMSCs/PRPが最も高値を示し、dMSCsを用いた群と用いない群との間に有意差を認めた。

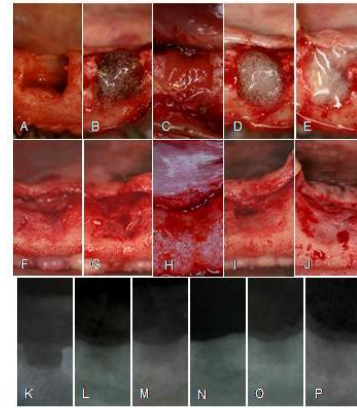
電子顕微鏡像では、PMは3次元ナノレベル構造を呈し、dMSCsがPM表面に接着している様子が観察された。

本研究により、PMは3次元ナノレベル構造を有しており、細胞と生理活性物質とを併用することにより、骨欠損部に対する組織工学的的手法に基づいた骨再生法のスキャフォールドとして、有効であることが示唆された。

本研究では3次元構造を持つマトリックスの骨形成能を検討し、場合によっては患者に余分な侵襲を加えることなく新規人工材料のみにて骨再生できる可能性を秘めており、より汎用性の高い材料の開発を目指す点も特色であると言える。結果として従来の骨代替材料と同等な骨形成を確認することができた。今後さらに検討をすすめ実用化が可能となれば、歯科医療界における貢献は大きく、産業界への貢献も期待できる点では意義深いものとなるものと考えている。



Histological evaluation of control, PM, PM/PRP, PM/dMSCs, and PM/dMSCs/PRP groups at each time point (higher magnification). Sections of representative implants are shown from each group. The sections were stained using hematoxylin and eosin. Original magnification, $\times 100$ for all photographs. (A) 2 weeks Control group, (B) 4 weeks Control group, (C) 8 weeks Control group, (D) 2 weeks PM group, (E) 4 weeks PM group, (F) 8 weeks PM group, (G) 2 weeks PM/PRP group, (H) 4 weeks PM/PRP group, (I) 8 weeks PM/PRP group, (J) 2 weeks PM/dMSCs group, (K) 4



Macroscopic and the radiographic observations of bone regeneration. (A) Bone defects were prepared with a trephine bar with a diameter of 10 mm. Control were defects only. (B-E) The defects were filled by PM (B), PM/PRP (C), PM/dMSCs (D), and PM/dMSCs/PRP (E). (F) At 8 weeks, bone regeneration in the control (defect only) was not complete. (G-I) After 8 weeks, new bone regeneration was observed with PM (G), PM/PRP (H), PM/dMSCs (I), and PM/dMSCs/PRP (J). Newly formed bone in the PM/dMSCs/PRP group filled the bone defects almost completely (J). X-ray image of a bone defect before implantation (K) and with each material at 8 weeks; Control (L), PM (M), PM/PRP (N), PM/dMSCs (O), and PM/dMSCs/PRP (P).

Table I. The bone volume in each grafted materials

Time	sample	Bone Volume (%)
2 weeks	Control	7.02 ± 1.89
	PM	9.76 ± 1.98
	PM/PRP	11.25 ± 1.29
	PM/dMSCs	30.59 ± 3.46
	PM/dMSCs/PRP	32.27 ± 2.89
4 weeks	control	12.09 ± 2.80
	PM	15.84 ± 2.01
	PM/PRP	22.09 ± 3.00
	PM/dMSCs	44.51 ± 5.55
	PM/dMSCs/PRP	50.44 ± 5.88
8 weeks	Control	12.39 ± 1.29
	PM	25.29 ± 3.82
	PM/PRP	27.72 ± 3.15
	PM/dMSCs	50.07 ± 3.97
	PM/dMSCs/PRP	58.43 ± 5.06

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1件)

Yoshimi R, Yamada Y, Ito K, Nakamura S, Abe A, Nagasaka T, Okabe K, Kohgo T, Baba S, Ueda M.

Self-assembling peptide nanofiber scaffolds, platelet-rich plasma, and mesenchymal stem cells for injectable bone regeneration with tissue engineering.

J Craniofac Surg.20.1523-1530.2009.

査読 有

[学会発表] (計1件)

吉見涼子、山田陽一、伊藤憲治 上田 実他

ナノテクノロジーによる新規3次元マトリックスの再生医学的骨再生法への応用
第52回 日本口腔外科学会総会
2007, 9.29-30 名古屋国際会議場. 日本

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊藤 憲治 (Kenji Ito)

名古屋大学・医学部附属病院・病院助教

研究者番号：50402623