

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：32667

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K10191

研究課題名(和文)量子ビーム架橋技術を用いたコラーゲンゲルにおけるヒト歯髄幹細胞の幹細胞特性の解明

研究課題名(英文)Characterization of human dental pulp stem cells using radiation-crosslinked gelatin hydrogel.

研究代表者

筒井 健夫 (Tsutsui, Takeo)

日本歯科大学・生命歯学部・教授

研究者番号：70366764

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)：当該研究は、強度(硬さ)を制御したコラーゲンゲル上でのヒト歯髄幹細胞の幹細胞特性の解明を目的として研究が進められた。コラーゲンゲルの強度を、量子ビームを応用した架橋技術から機能性コラーゲンゲルとして作製し、ヒト歯髄幹細胞を分化させる神経や血管組織、および硬組織などの生体適合性を有した培養用足場として使用する。本研究では、ヒト歯髄幹細胞を強度の異なるコラーゲンゲルを用いて分化誘導し、それぞれの硬さにおける細胞特性について解析した。  
特許出願を予定しているため公表内容を差し控えている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、コラーゲンハイドロゲル材料の先端医療デバイス応用に向け、ヒト歯髄幹細胞を用いた新規再生医療技術に関する研究開発を進めている。そのためには、機能性コラーゲンゲルによるヒト歯髄幹細胞の幹細胞特性を解析する必要がある。これらから細胞治療に必須とされる機能性足場であるコラーゲンゲルをよりの確に使用するための細胞の性質、およびコラーゲンの適正条件を再生医療応用の現場へ提供し、さらに医療の進展と普及を加速させ、国民へ安全かつ適正な再生医療を実現させる。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this research project has investigated the characterization of human dental pulp stem cells (hDPSCs) in the collagen gel with different stiffness. Radiation-crosslinked gelatin hydrogel has been prepared for different degrees of hardness. The degrees of hardness gelatin with biocompatibility used for hDPSCs differentiation into a nerve, blood vessel and hard tissue culture scaffold. We have characterized hDPSCs in the degree of hardness gelatin for differentiation.  
Our research achievements cannot be disclosed due to applying for a patent application.

研究分野：再生歯学

キーワード：機能性コラーゲン 歯髄幹細胞 分化誘導

## 1. 研究開始当初の背景

ヒト歯髄幹細胞は間葉系幹細胞に分類され、骨髄幹細胞と比較して高い細胞増殖率を有しており、免疫不全マウスへの皮下移植においては、象牙質/歯髄様複合体の形成による組織再生能が報告されている。さらに分化誘導では、神経細胞や脂肪細胞、血管内皮細胞、軟骨細胞および硬組織形成などの多分化能も示されており、細胞移植による再生医療のシーズとして有用視されている。また、同様に再生医療のシーズとして用いられている骨髄幹細胞では、足場強度の違いにより、神経細胞や筋細胞、および骨芽細胞への分化に重要であることが示されている。しかし、一般に高い使用頻度のコラーゲンは動物由来が多く、生体への影響を考慮する必要がある。また、ゼラチンやコラーゲンは、強度を保持するため架橋構造にグルタルアルデヒド等の化学物質を用いる必要がある。そのため、細胞や生体への毒性についても考慮する必要性があり、薬剤を用いず強度を安定化することが困難であった。

本研究で用いられるコラーゲンは量子ビーム改質技術を応用した架橋技術を駆使し、架橋の際に必要とされるグルタルアルデヒド等の化学物質を用いることなく、滅菌と同時に生体適合性を保持しており、強度の安定化も可能としている。また、我々はこれまでに歯髄幹細胞の組織再生能、および分化能について研究を進め細胞特性を明らかにしてきた。これら研究経緯から歯髄幹細胞を再生医療へ応用するためには、足場となる量子ビーム架橋技術を駆使したコラーゲンを3次元培養技術へ応用し、歯髄幹細胞の分化過程における足場強度の影響と関連した歯髄幹細胞分化メカニズムの解明が必要である。生体適合性を有する歯髄幹細胞の分化過程における足場強度の影響、およびニッチと歯髄幹細胞分化メカニズムに関して深い理解が必須である。さらに、分化誘導された細胞による歯髄様組織構築が再生医療への応用には不可欠であり、これらの研究のさらなる進展が求められている。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、量子ビーム架橋技術を駆使したコラーゲンにおけるヒト歯髄幹細胞の幹細胞特性の解明である。電子線やX線、イオンビームなどの量子ビームを応用した架橋技術によるコラーゲンは、コラーゲンの硬さ(強度)を2次元あるいは3次元的に制御したハイドロゲル化により、歯髄幹細胞の機能性足場となる。本技術は、薬剤を用いず生体適合性を保った状態でコラーゲンをハイドロゲル化することにより、その硬さを神経や血管組織、硬組織に適合した強度にコントロールすることを可能とする。本研究では様々な強度のコラーゲンを応用し歯髄幹細胞と周囲環境(ニッチ)との相互作用も解明する。さらに、接着性を有する細胞を用いて器質欠損が生じた生体部位に再生医療として、生体適合性を保ったコラーゲンを使用する際に、分化制御により適合したコラーゲンの硬さを見出すことができると考えられる。本研究を基盤とし、歯髄幹細胞を用いた量子ビーム架橋コラーゲンハイドロゲル材料の先端バイオデバイス応用による高度な物性制御技術を駆使して、新規再生治療法に向けた研究開発を進める。

## 3. 研究の方法

量子ビーム架橋技術を駆使したコラーゲンのコラーゲンの硬さ(強度)を2次元ある

いは3次元的に制御したハイドロゲル化し、硬さの異なるコラーゲンを機能性コラーゲンとし培養細胞の足場として使用する。

細胞特性解析として、細胞増殖や細胞形態、および遺伝子発現量やタンパク質の局在などを種々の方法により解析している。

特許出願を予定しているため公表内容を差し控えている。

#### 4. 研究成果

特許出願を予定しているため公表内容を差し控えている。

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	小林 朋子  (Kobayashi Tomoko)  (10548283)	日本歯科大学・生命歯学部・講師    (32667)	
研究分担者	田口 光正  (Taguchi Mitsumasa)  (60343943)	国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・高崎量子応用研究所 先端機能材料研究部・次長    (82502)	
研究分担者	大山 智子  (Oyama Tomoko)  (90717646)	国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・高崎量子応用研究所 先端機能材料研究部・主幹研究員    (82502)	

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