

令和 6 年 4 月 6 日現在

機関番号：32404

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K10194

研究課題名(和文) バイオ3Dプリンターと臍帯由来幹細胞を用いた早期顎裂閉鎖の新規ストラテジー

研究課題名(英文) A novel strategy for early alveolar cleft closure using bio-3D printers and umbilical cord-derived stem cells

研究代表者

須田 直人 (Suda, Naoto)

明海大学・歯学部・教授

研究者番号：90302885

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)：唇顎口蓋裂児の顎裂閉鎖は、口唇閉鎖と口蓋閉鎖の後に、顎裂部二次骨移植術により行われる。歯肉骨膜形成術(GPP)は、乳幼児期に顎裂部を骨膜で覆い、顎裂間の歯槽に骨架橋形成を誘導する早期の顎裂閉鎖術である。GPP施行後の成績では、歯槽部に十分な骨架橋が得られなかった症例も経験したため、局所に患児の骨髄を移植した。

骨髄移植症例の骨架橋の最大唇舌幅と垂直高は、対照症例と比較して有意に大きかった。一方、骨髄移植症例と対照症例間で、非裂側の歯槽高と梨状孔下縁の垂直的位置の左右差に有意な差はなかった。GPP施行時の骨髄移植は、骨架橋の下端と舌側の骨架橋形成に有効と考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

唇顎口蓋裂児の主要な問題点として、歯列・咬合の異常があげられる。そのため健常児と比較して、唇顎口蓋裂児の矯正治療では、顎裂に近接した歯の萌出不全、萌出方向の異常、狭窄歯列といった問題点の改善が必要となる。これらの改善にあたり多くの症例で、唇(頬)側と舌側の双方に固定式装置を装着し、長期にわたる治療が必要となる。

本研究の成果として、唇顎口蓋裂児において、GPP施行時の骨架橋量は骨髄移植を行うことで明らかな増加をみた。この結果は、今後、健常児と同程度の負担と治療期間で矯正治療を終了させうる可能性を示唆する。

研究成果の概要(英文)：Cleft closure in children with cleft lip/palate is performed by secondary cleft bone grafting after lip and palate closure. Gingival periosteoplasty (GPP) is an early cleft closure technique that covers the cleft area with periosteum during infancy and induces the formation of a bone bridge between the alveolar clefts. Regarding the results after GPP, we experienced some cases in which sufficient bone bridges were not obtained in the alveolar region, and we locally transplanted the patient's bone marrow.

The maximum labiolingual width and vertical height of the bone bridge in bone marrow transplant cases were significantly larger than in control cases. On the other hand, there was no significant difference in the alveolar height on the non-cleft side and the vertical position of the lower edge of the piriform foramen between the bone marrow transplant cases and control cases. Bone marrow transplantation during GPP was considered effective for forming bone bridges.

研究分野：歯科矯正学、顎矯正学

キーワード：唇顎口蓋裂 骨髄移植 歯肉骨膜形成術 顎裂再建

## 1. 研究開始当初の背景

唇顎口蓋裂 (CLP) 患者では、口唇裂、口蓋裂、顎裂といった裂隙が存在するため、審美・形態的な問題点と共に、咀嚼、咬合、発音、摂食といった口腔機能の障害を伴う。このうち口唇裂は、術式の改良によって、術後の創閉鎖がほとんど目立たない口唇閉鎖が行われている。口蓋裂も、これまで多く施行されてきた pushback 法の欠点である raw surface が生じない Furlow 法が導入され、歯列狭窄や機能障害のない口蓋閉鎖が行われている。

顎裂閉鎖に関しては、比較的早期に施行される歯槽歯肉骨膜形成術 (GPP)、永久歯の萌出期に自家骨を用いて施行される顎裂部二次骨移植術が知られている。このうち GPP は、早期に顎裂閉鎖による口腔機能の改善を図ることが可能なため、口唇形成術と同時施行する施設が増えている。しかしながら、最近の我々の結果では、GPP 後の顎裂部に歯槽高の 44.4% しか骨架橋が得られなかった。顎裂閉鎖後の骨架橋の形成状態は、矯正歯科治療や補綴治療において、治療計画や治療結果に大きな影響を与える。そのため、今後の CLP 治療を考えた時に、改善すべき極めて大きな問題と言える。

近年、歯科医療において再生医療への期待は大きい。特に矯正歯科治療における歯の移動では、健康で十分量の歯槽骨や顎骨が不可欠である。我々は、顎裂閉鎖において、ドナーへの侵襲が無く比較的細胞調整が容易な臍帯由来の幹細胞を用いて基礎研究を行ってきた。その結果、臍帯由来間葉系幹細胞が顎裂再建にあたり、有用な細胞であることを明らかにした。しかしながら、再建された骨架橋の形態と構造は、均一で整然としたものではなかったこのように、患児のバイオリソースを用いた顎裂再建には改善すべき点が多かった。

## 2. 研究の目的

CLP 児の QOL には、哺乳、摂食、発音、咬合といった口腔機能が大きく関わる。顎裂の再建は、乳児期の哺乳や摂食、幼児期から開始される発音、その後の乳歯列や永久歯列の咬合機能のいずれにも関わる。そのため、GPP によって乳児期に顎裂再建を図り、早期の機能改善を図ることは大きな意義を持つ。また咬合育成の観点から考えると、顎裂再建が不十分な症例では、矯正歯科治療による歯の移動が効率的に行えないという制約を生じる。さらに欠如歯の多い CLP の欠損補綴

治療では、顎裂開存により十分な機能回復が困難な例がある。

本研究の目的は、GPPによる顎裂再建を行うにあたり、これまで行ってきたヒト間葉系幹細胞の移植によって、CLP児の骨架橋形成の成績を向上させることである。

### 3. 研究の方法

#### 1) 基礎研究

16週齢の雄性SDラットの上顎骨に骨欠損を作製し、scaffold単独移植群とscaffold+ UC-MACS移植群を比較した。scaffold+UC-MACS移植群では、scaffoldにUC-MACSを播種し、一晚培養後、骨欠損部に移植した。いずれも8週間後に $\mu$ CTによる骨形成の評価を行った。

#### 2) 臨床研究

対象としたUCLP全例で、生後1か月以内に術前顎矯正が開始され、3~6カ月時にNoordhoff法の口唇形成術とGPPが同時施行された。全身麻酔の導入後に後腸骨稜より3~5mlの骨髓液を採取した。GPPによって生じた骨欠損部に骨髓を浸透させた真皮欠損用グラフト（テルダーミス、アルケア社）を充填した（BMT症例：5例）。骨架橋の評価には、Hellmanの歯齡IICからIIIB期に撮影されたCBCTを用いて、真皮欠損用グラフトのみを移植した対照症例（4例）と比較検討した。計測項目は、以下の通りである。

骨架橋の唇舌幅

骨架橋の垂直的長さ

非裂側の歯槽高

梨状孔下縁の垂直的位置の左右差

なお、本研究は埼玉医科大学倫理審査委員会に承認され(10-041)、患者家族の同意承諾後行った。

### 4. 研究成果

#### 1) 基礎研究

12回のRGD(Arg-Gly-Asp)配列を持つレコンビナント型コラーゲン(RCP)粒子から成る骨再生誘導材は、吸収性に優れ組織親和性が高いことが報告されて

いる 15)。そこで、この RCP 粒子の埋入と、リフィット®をラット顎裂モデルへ埋入して、誘導される骨再生を  $\mu$ CT で比較検討した。定量評価より、誘導された硬組織量はいずれの誘導材によっても増加したが、RCP 粒子とリフィット®間で有意な差はなかった。しかしながら、リフィット®埋入は骨欠損内部に島状に硬組織形成を誘導したのに対し、RCP 粒子は実験的顎裂の断端に硬組織を伸長させた。RCP 粒子の RGD 配列は細胞のインテグリン分子に結合することが知られている。この特徴によって RCP 粒子が骨欠損部に連続した硬組織形成を誘導した可能性が考えられる。

RCP 粒子が骨欠損断端から骨組織形成を伸長させたという特徴的な所見について、以下 2 点の考察が可能である。1 点目として、RCP はインテグリンを介して組織再生や血管新生におけるシグナル伝達経路を活性化することが報告されている。この時インテグリンは、上皮成長因子 (EGF) や血管内皮成長因子 (VEGF) 依存性に受容体を活性化しシグナル伝達を行っていることが知られている。またインテグリンは成長因子非依存性に成長因子受容体を直接活性化することができる。EGF 受容体がインテグリンにより EGF の非存在下でリン酸化されるのはこの一例である<sup>17)</sup>。これに加え、インテグリンはシグナル伝達タンパク質を集積させ、成長因子受容体下流に存在するシグナル伝達分子との相互作用を補強することが示唆されている<sup>18)</sup>。このようなシグナル伝達により、RCP 粒子がインテグリンを介して骨欠損断端の骨形成に強く働きかけた可能性が考えられる。2 点目として、リフィット®は無機質としてヒドロキシアパタイトを含み、埋入後ヒドロキシアパタイト周囲で異所性に骨形成が起きる特徴がある。一方、無機質を含まない RCP 粒子は既存骨の骨欠損断端に働きかけ、この部位に選択的に骨形成を進行させた可能性が考えられる。

## 2) 臨床研究

BMT 症例の骨架橋の唇舌幅と垂直的長さは、対照症例よりも有意に大きかった。一方、BMT 症例と対照症例間で、非裂側の歯槽高と梨状孔下縁の垂直的位置の左右差に有意な差はなかった。

我々は、対照症例と BMT 症例のいずれに対しても、術前顎矯正や GPP が上顎歯列弓の狭窄や上顎骨劣成長を招く可能性のある場合は GPP を施行していない (Fujimoto M, et al, Cleft Palate Craniofac J. 2022)。GPP 施行時の骨髄移植

は、骨架橋の下端と舌側における骨組織形成に有効で、顎裂部二次骨移植を必要とする GPP 症例の減少に寄与する可能性がある。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Mano M, KIMIRA Y, Sugiyama A, Mano H, Suda N	4. 巻 1
2. 論文標題 Reconstruction of Experimental Alveolar Cleft by Recombinant Type I Collagen Peptide Particles	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 J Meikai Dent Med	6. 最初と最後の頁 27-33
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 オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Akiko Toyota, Rei Shinagawa, Mikiko Mano, Kazuyuki Tokioka, Naoto Suda	4. 巻 on line journal
2. 論文標題 Regeneration in Experimental Alveolar Bone Defect Using Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Transplant .	6. 最初と最後の頁 on line journal
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1177/0963689720975391	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

1. 著者名 鈴木大喜、野尻尚子、藤本舞、長谷川紘也、真野樹子、須田直人	4. 巻 46
2. 論文標題 明海大学病院矯正歯科における過去20年間の口唇裂・口蓋裂患者の実態調査	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 日本口蓋裂学会雑誌	6. 最初と最後の頁 160-167
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 オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Naoto Suda	4. 巻 64
2. 論文標題 Role of reduced enamel epithelium in root resorption.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Oral Biosci.	6. 最初と最後の頁 43-48
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.job.2021.10.004	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

1. 著者名 又平悠里恵、大塚雄一郎、佐々木 会、大島 隆史、須田 直人	4. 巻 53
2. 論文標題 顎矯正手術前後の顎変形症患者の口腔内細菌数と洗口液の効果	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 明海歯学	6. 最初と最後の頁 37-43
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 オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 湯川 未郷、藤本 舞、大塚雄一郎、須田 直人	4. 巻 53
2. 論文標題 著しい上下顎歯列弓の狭窄による重度叢生および 下顎右側第二大臼歯の半埋伏を伴う Angle Class II ハイアングル症例	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 明海歯学	6. 最初と最後の頁 44-54
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 オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 野尻 尚子、真野 樹子、須田 直人	4. 巻 53
2. 論文標題 歯根破折した上顎両側中切歯を便宜抜歯して治療した ハイアングルAngle 級叢生症例	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 明海歯学	6. 最初と最後の頁 62-68
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 オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nomura T, Sasaki A, Fujimoto M, Mano M, Suda N, Kondo K.	4. 巻 26
2. 論文標題 Effects of jaw movement in bimaxillary orthognathic surgery on the upper airway: Computational fluid dynamics analysis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Orthod Craniofac Res	6. 最初と最後の頁 311-319
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ocr.12627	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fujimoto M, Mano M, Sasaki A, Hasegawa H, Suzuki M, Nojiri N, Minami Y, Tokioka K, Suda N.	4. 巻 60
2. 論文標題 Three-dimensional Analysis of Factors Related to the Effective Alveolar Molding in Presurgical Infant Orthopedics: Findings From a Pilot Study	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cleft Palate Craniofac J	6. 最初と最後の頁 843-850
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ocr.12627	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 野尻尚子、真野樹子、長谷川紘也、花澤清紀、藤本舞、鈴木大喜、南裕梨、小澤謙太、須田直人
2. 発表標題 術前顎矯正治療における口蓋床作製の完全デジタル化
3. 学会等名 第46回日本口蓋裂学会総会・学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 藤本舞、佐々木会、真野樹子、須田直人
2. 発表標題 上顎の垂直的劣成長を伴う口唇裂・口蓋裂症例における外科的矯正治療
3. 学会等名 第46回日本口蓋裂学会総会・学術集会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 南 裕梨、真野樹子、平川崇、安村和則、杉山円、小林真司、須田直人
2. 発表標題 術前顎矯正とGPPを施行した片側性唇顎裂乳児の上顎骨形態（第2報） ANSの側方偏位について
3. 学会等名 第46回日本口蓋裂学会総会・学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 須田直人
2. 発表標題 ヒト臍帯由来間葉系幹細胞を用いた顎裂再建の可能性
3. 学会等名 第63回歯科基礎医学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 須田直人
2. 発表標題 明海大学病院における非都市型医療連携
3. 学会等名 岡山大学口唇裂・口蓋裂センターセミナー（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 須田直人
2. 発表標題 遺伝病の患者会ってどんなもの？
3. 学会等名 愛知学院大学歯学会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Naoto Suda
2. 発表標題 Orthodontic treatment having difficulty in tooth movement
3. 学会等名 Annual meeting of Mongolian Association of Orthodontists（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 須田直人
2. 発表標題 外科的矯正治療による あごの形と咬み合わせの治療
3. 学会等名 第33回日本顎変形症学会総会・学術大会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Naoto Suda
2. 発表標題 3D-simulation for tooth transplantation in a case with severe root resorption of three maxillary incisors
3. 学会等名 ANGLE MIDWEST Annual Component Meeting（国際学会）
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 須田直人
2. 発表標題 診査・診断・治療計画の立案 -骨格性下顎前突症例を中心に-
3. 学会等名 第33回日本顎変形症学会総会・学術大会（招待講演）
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計5件

1. 著者名 日本顎変形症学会編	4. 発行年 2022年
2. 出版社 クインテッセンス出版	5. 総ページ数 99
3. 書名 顎変形症治療の基礎知識	

1. 著者名 西井 康、新井一仁、小野卓史、須田直人、友成 博、不島健持、榎 宏太郎、本吉 満、森山啓司、山口徹太郎	4. 発行年 2023年
2. 出版社 永末書店	5. 総ページ数 253
3. 書名 歯科矯正学 エッセンシャルテキスト	

1. 著者名 須田直人、高井基普	4. 発行年 2023年
2. 出版社 医歯薬出版	5. 総ページ数 32
3. 書名 補綴と矯正	

1. 著者名 須田直人（監修 道 健一）	4. 発行年 2024年
2. 出版社 医歯薬出版	5. 総ページ数 2
3. 書名 臨床歯科医学・口腔外科学	

1. 著者名 須田直人、監修（真野博、君羅好史）	4. 発行年 2023年
2. 出版社 株式会社シーエムシー出版	5. 総ページ数 8
3. 書名 コラーゲンの機能と応用	

〔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	時岡 一幸  (Kazuyuki Tokioka)  (70332616)	埼玉医科大学・医学部・教授     (32409)	

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