

令和 5 年 5 月 15 日現在

機関番号：37114

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2022

課題番号：21K21052

研究課題名(和文) 脱分化脂肪細胞とフィブリンゲル併用によるインプラント体の骨結合の早期獲得法の開発

研究課題名(英文) New cytotherapy for osseointegration in implants combined with dedifferentiated adipocytes and fibrin gels

研究代表者

藤崎 誠一 (Fujisaki, Seiichi)

福岡歯科大学・口腔歯学部・助教

研究者番号：70910272

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円

研究成果の概要(和文)：歯科インプラント埋入治療過程には、健全な顎骨のリモデリングが不可欠であるにも関わらず、高齢者や骨代謝疾患患者ではこの不全を伴う場合が多くある。脱分化脂肪(DFAT)細胞は脂肪由来MSC(ASC)と共にMSCとしての特性を有する細胞であることが知られている。しかしながらDFAT細胞を使用した細胞骨再生療法が有用であるか全く不明である。本研究により、インプラント治療にDFAT細胞を利用してさらにフィブリンゲルを併用した場合、新生骨形成が有意に促進された。従って、フィブリンゲルを併用した骨再生療法を併用することにより、オッセオインテグレーションの迅速で確実な獲得法の開発につながる可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脂肪由来の幹細胞(ASCs)が現在臨床応用されはじめているのに比較して、DFAT細胞を用いた細胞再生療法に関して研究レベルでの報告にとどまっている。また、顎骨へのインプラント埋入における細胞再生療法に関する報告はほとんどなく、さらに、間葉系幹細胞とフィブリンゲル(CGFやAFG)を使用した細胞再生療法の研究はない。従って、インプラント治療過程での骨増生手術時に間葉系幹細胞様特性を持つDFAT細胞を使用して細胞骨再生療法によるオッセオインテグレーション獲得への効果について明らかにすることは、将来的な臨床における新規治療法を開発において非常に意義があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Although health jawbone remodeling is essential for the dental implant placement treatment process, the failure of implantation has often accompanied by the elderly and patients with bone metabolic diseases. Dedifferentiated adipose (DFAT) cells are known to be cells with MSC properties together with adipose-derived MSCs (ASCs). However, it is unclear whether jawbone using DFAT cells is efficient on cellular regenerative therapy. In present study, new bone formation was significantly promoted when fibrin gel was used in combination with DFAT cells for implant treatment. Therefore, the jawbone regeneration therapy combination with fibrin gel may lead to develop of in rapid and reliable acquisition for osseointegration during implant therapy.

研究分野：口腔インプラント学分野

キーワード：脱分化脂肪細胞 AFG 骨再生 オッセオインテグレーション

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

現在、歯科臨床のインプラント治療では、自家骨や骨補填材を用いた骨増生手術が多く施行されている。さらに、最近では自己の血漿由来の成分を利用したフィブリンゲル (CGF や AFG) をこの施行術に付加的に用いる治療も行われるようになってきている。しかしながら、現行の増生術において未だ解決すべきいくつかの問題点は、骨再建までに時間がかかること、患者負担が大きいこと、感染のリスクがあることなどが挙げられる。これら問題点をより軽減するため、骨再生療法の新しい開発が、現在熱望されている。現行の骨増生に応用可能で効果的な改変方法の有力な候補として、間葉系由来の幹細胞を使用した細胞再生療法がある。この細胞再生療法に使用する幹細胞としては、骨髄、脂肪、歯根膜及び歯髄由来の幹細胞があり、一部は既に臨床的な応用が開始されている。しかしながら、これら幹細胞は、採取時にドナーへの負担が大きいこと、組織での幹細胞の含有割合が微少ないこと、採取しても均一な細胞集団へ分離が困難なことなどの使用する場合にいくつかの問題点がある。従って、申請者はこの細胞骨再生療法に使用する幹細胞として、生体内に多く存在する組織で、採取時にレシピアントへの負担が比較的低い脂肪組織に注目した。脂肪組織から採取出来る幹細胞には、脂肪組織由来幹細胞(ASC)と脱分化脂肪(DFAT)細胞がある。ASC は既に整形外科、消化器外科及び形成外科領域の临床上でいくつか利用されている。しかしながら、均一な細胞を多量に採取困難という問題点に関しては依然未解決である。

2. 研究の目的

DFAT 細胞は、成熟脂肪細胞を天井培養法という特殊な培養法で脱分化させた、間葉系幹細胞と同様な特徴と多分化能を持ち、脂肪組織から均一で多数の細胞が採取できる。しかしながら、DFAT 細胞は細胞再生療法への適応が明確ではなく、臨床応用、特に歯科臨床のインプラント治療領域に関して、応用可能かどうか全く明らかではない。さらに、現在注目されている DFAT 細胞に血漿由来のフィブリンゲル(CGF や AFG)を併用した細胞骨再生療法に関する報告はない。

本研究の目的は、脂肪組織由来の間葉系幹細胞様の DFAT 細胞を使用して細胞再生療法を行うことで、インプラント埋入におけるオッセオインテグレーションの早期で確実な獲得法の開発を目指すことである。

3. 研究の方法

SD ラット腹部の脂肪組織より DFAT 細胞及び ASC 細胞を採取した。

in vitro: DFAT 細胞と ASC 細胞の骨形成関連分子の発現を評価した。

in vivo: DFAT 細胞の顎骨再生能について、加齢ラットおよび卵巣切除 (OVX) ラットの下顎骨部分欠損モデルを用いて評価した。また移植するラットより血液を採取して、遠心分離よりフィブリンゲルを効率よく作製する方法について模索した。加齢ラット上顎骨にチタン製インプラント体、フィブリンゲルの埋と DFAT 細胞あるいは ACS の同時埋入を行う事で、インプラント体周囲のオッセオインテグレーションにどのような効果を及ぼすか検討した

4. 研究成果

まず、ラットの血液よりフィブリンゲルの作成方法に関していくつか試行したところ、血液凝固抑制剤を使用せず、ガラス管のみでフィブリンゲルを効率よく採取する方法が確立できた。また、ラットにスクリュードライバーを使用することで、脱落頻度が低いインプラント埋入法が確立出来た。さらに、DFAT細胞を併用して埋入したところ、2ヶ月後において、コントロールやASCに比較して炎症性細胞の浸潤が少なく、インプラント周囲骨形成はこれら細胞移植で同程度に得られた。さらに、DFAT cells群及びDFAT cells+AFGの移植群のインプラント体周囲骨はコントロール群よりの骨形成様像が見ら

れた。また、in vitroにおいて、DFAT細胞はASCと異なりERK1/2-Smad2/3系活性化を介して骨分化が促進された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yanagi T, Kajiya H*, Fujisaki S, Maeshiba M, Yanagi-S A, Yamamoto-M N, Kakura K, Kido H, Ohno J.	4. 巻 18
2. 論文標題 Three-dimensional spheroids of dedifferentiated fat cells enhance bone regeneration.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Regen Ther.	6. 最初と最後の頁 472-479
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.reth.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 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 藤崎誠一, 鍛冶屋浩, 柳束, 後藤加寿子, 加倉加恵, 岡部幸司, 城戸寛史
2. 発表標題 脱分化脂肪（DFAT）細胞を利用した下顎骨細胞再生作用
3. 学会等名 第39回日本骨代謝学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤崎誠一, 柳束, 佐藤絢子, 坂井拓弥, 加倉加恵, 城戸寛史
2. 発表標題 脱分化脂肪（DFAT）細胞を利用した新規インプラント埋入法の探索
3. 学会等名 第52回日本口腔インプラント学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 藤崎誠一, 鍛冶屋浩, 柳束, 加倉加恵, 城戸寛史, 大野純
2. 発表標題 脂肪由来幹細胞とフィブリンゲルを用いたインプラント周囲骨再建法の探索
3. 学会等名 第22回日本再生医療学会総会,
4. 発表年 2023年

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------