

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 11 日現在

機関番号：32622

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24792253

研究課題名(和文) 脂肪組織由来スキャホ-ルドと脂肪幹細胞を用いた骨再生

研究課題名(英文) Bone regeneration utilizing ADSCs

研究代表者

吉澤 泰昌 (Yoshizawa, Yasumasa)

昭和大学・歯学部・助教

研究者番号：90433812

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：ヒトの体脂肪組織から、ASCsを抽出・培養した後の組織からスキャホ-ルドを作成し、含有される各種成長因子を網羅的に検討した。  
骨への分化誘導した脂肪幹細胞と脂肪組織より分離精製するスキャホ-ルドの共培養を行った。  
骨分化誘導した脂肪幹細胞と脂肪組織より分離精製するスキャホ-ルドの複合体のin vivoにおける骨組織再生の検討を行った。

研究成果の概要(英文)：We have successfully purified ADSCs from human fat tissue, and investigated the specificity of the cells. Furthermore, we were capable of inducing the cells into osteoblasts by co-culture with hydroxyapatite scaffolds.

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：脂肪幹細胞 骨芽細胞 ハイドロキシアパタイト 脂肪細胞 再生歯学 スキャフォールド

## 1. 研究開始当初の背景

歯科口腔外科領域の様々な疾患により生じる歯槽骨、顎骨欠損に対しては、古くから様々な再建、再生の試みがなされてきた。一般的に骨再生には細胞増殖因子、足場材料(担体)、細胞を巧みに組み合わせることが必須条件であることは知られており、骨形成に関わる成長因子の選択、多分化能幹細胞の確保、そしてその細胞の侵入、播種可能な空隙構造を有する適切な足場材料の使用が成功の鍵になると言われている。脂肪幹細胞(ASCs)は間葉系の幹細胞であり、骨芽細胞や軟骨細胞、筋芽細胞、脂肪細胞に分化する可能性を有する細胞である。成熟脂肪組織由来の脂肪幹細胞から、骨芽細胞あるいは軟骨細胞を分化誘導することにより、骨再生医療に応用することが期待されている。現在、マウスやイヌ脂肪幹細胞を抽出し骨芽細胞に分化誘導することにより骨形成が可能であること、また、人間の脂肪組織から脂肪幹細胞を抽出し、骨芽細胞様細胞に分化することが可能であることが報告されている。一方、同一個体内で脂肪幹細胞抽出し、骨芽細胞へ分化誘導し、骨欠損部(顎骨)に移植した場合の効果については基礎的な研究も含め、報告をみない。また、どの研究の報告でも骨芽細胞発現遺伝子を形質導入しており、倫理的問題が大きく、臨床応用が難しいと考える。さらに、脂肪組織中の細胞分画には様々な成長因子が大量に含まれことが解ってきた。本研究計画は、手術等で摘出または吸引され、破棄される予定であった脂肪組織から、脂肪幹細胞を分離する。また、生理的、包括的な細胞増殖因子の内包を兼ね備えた新規足場材料(スキャホールド)として自家脂肪組織より得られる結合組織を用いる。申請者らは、すでに脂肪幹細胞(ASCs)から振動による物理的刺激とPPAR $\gamma$ 阻害剤により、骨分化させることに成功しており、この脂

肪幹細胞から骨分化させた骨芽細胞と自家組織からのスキャホールドを組み合わせることにより、顎骨(歯槽骨)再生治療に向けての骨組織の形成を試みる。

従来、再生医療に使用される担体はコラーゲンが多用されており、そこにある種の成長因子を加えると言った手法が取られていたが、申請者が考える担体は単なる一種類の成長因子の添加による骨形成を企図するのではなく、生理的な、かつ包括的な成長因子を内包、そして放出を兼ね備えた自家担体を目指す。このニーズに合致したものが、MEDKAN社 FillerGeller LIPOMAX-SC システム(図1)による脂肪組織の濃縮加工産物の利用である。これはヒトの脂肪組織を遠心し遊離脂肪を除去した分画成分でFATGEL(図2,3)と呼ばれる。H.Y.Leeらによれば、このFATGELの生物学的特性を詳細に研究、新規担体としての可能性を既に論文報告している(Tissue engineering 15:1-10, 2009)。申請者らはこのFATGELの特性に顎口腔領域の骨欠損再生療法における新規足場材料(スキャホールド)としての可能性を見出した。さらにこのFATGELに当科独自の手法である物理的機械刺激を加えて分化誘導したASCsを加えて従来の骨再生法を凌駕する手法の確立を期待している。具体的手法に関しては、ヌードマウスの頭蓋冠に形成した骨欠損部にFATGELと分化誘導したASCsを充填、移植することによって当該部位に骨形成を誘導、従来の様々な知見を上回る骨再生が生じ得るかを検討する。

## 2. 研究の目的

本研究計画は、手術等で摘出または吸引され、破棄される予定であった脂肪組織から、脂肪幹細胞を分離する。また、生理的、包括的な細胞増殖因子の内包を兼ね備えた新規足場材料(スキャホールド)として自家脂肪組織より得られる結合組織を用いる。申請者らは、すでに脂肪幹細胞(ASCs)から振動による物

理的刺激と PPAR $\gamma$  阻害剤により、骨分化させることに成功しており、この脂肪幹細胞から骨分化させた骨芽細胞と自家組織からのスキャホールドを組み合わせるにより、顎骨（歯槽骨）再生治療に向けての骨組織の形成を試みる。

### 3. 研究の方法

美容外科領域で低侵襲で採取されたヒト体脂肪組織から、ASCs を分離するとともに、同じく脂肪組織から調整された新規自己担体を利用し、骨組織の再生を検討する。すなわち、1)脂肪組織よりの新規自己担体の成長因子含有に関する網羅的検討、2)骨分化誘導脂肪幹細胞と新規自己担体骨組織への誘導に関する *in vitro* での検討、3)ヌードマウスへの複合体移植による *in vivo* での検討を行った。

### 4. 研究成果

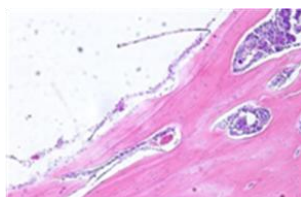
- ①ヒトの体脂肪組織から、ASCsを抽出・培養した後の組織からスキャホールドを作成し、含有される各種成長因子を網羅的に検討した。
- ②骨への分化誘導した脂肪幹細胞と脂肪組織より分離精製するスキャホールドの共培養を行った。
- ③骨分化誘導した脂肪幹細胞と脂肪組織より分離精製するスキャホールドの複合体の *in vivo* における骨組織再生の検討を行った。

下図参照

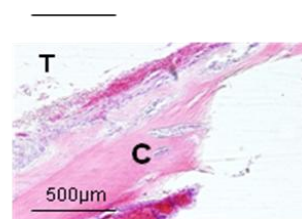
1. 分化させた細胞をヌードマウスに移植し、HE 染色を行った。

ADSC(-)

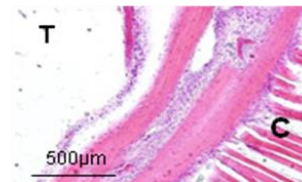
NHA



LIPUS

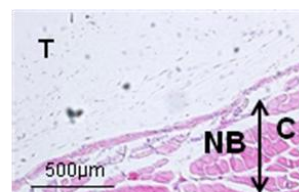


NHA+LIPUS

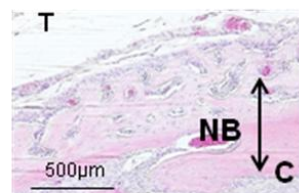


ADSC(+)

NHA



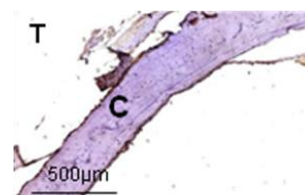
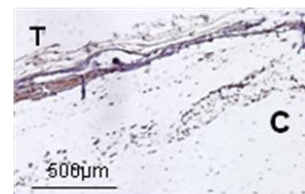
LIPUS



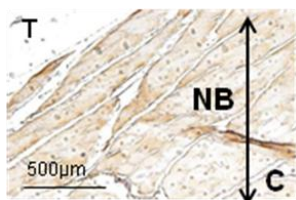
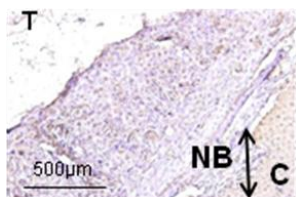
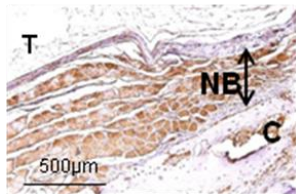
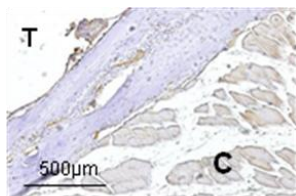
NHA+LIPUS



連続切片を、ヒトオステオカルシン抗体にて、免疫染色を行った（並びは HE 染色と同じ）



T



〔その他〕  
ホームページ等

6. 研究組織  
(1) 研究代表者  
吉澤 泰昌 (Yasumasa Yoshizawa)  
昭和大学・歯学部・助教  
研究者番号：904733812

(2) 研究分担者  
なし ( )

研究者番号：

(3) 連携研究者  
なし ( )

研究者番号：

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 0 件)

〔学会発表〕 (計 0 件)

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：