

表 5. 被験者数が 25 例の場合の諸種の対立仮説の組み合わせで算出した検出力の結果.

被験者数	新生歯槽骨増加被験者割合	アタッチメント獲得被験者割合	デブス改善被験者割合	検出力
25	0.1	0.1	0.3	0.925
25	0.1	0.1	0.4	0.993
25	0.1	0.1	0.5	1.000
25	0.1	0.2	0.2	0.840
25	0.1	0.2	0.3	0.967
25	0.1	0.2	0.4	0.997
25	0.1	0.3	0.1	0.925
25	0.1	0.3	0.2	0.966
25	0.1	0.3	0.3	0.995
25	0.1	0.4	0.1	0.993
25	0.1	0.4	0.2	0.997
25	0.1	0.5	0.1	1.000
25	0.2	0.1	0.2	0.840
25	0.2	0.1	0.3	0.965
25	0.2	0.1	0.4	0.997
25	0.2	0.2	0.1	0.841
25	0.2	0.2	0.2	0.925
25	0.2	0.2	0.3	0.986
25	0.2	0.3	0.1	0.965
25	0.2	0.3	0.2	0.983
25	0.2	0.4	0.1	0.996
25	0.3	0.1	0.1	0.930
25	0.3	0.1	0.2	0.964
25	0.3	0.1	0.3	0.992
25	0.3	0.2	0.1	0.968
25	0.3	0.2	0.2	0.984
25	0.3	0.3	0.1	0.993
25	0.4	0.1	0.1	0.991
25	0.4	0.1	0.2	0.997
25	0.4	0.2	0.1	0.997
25	0.5	0.1	0.1	0.999

(倫理面への配慮)

本研究で考察・提示する有効性評価のための被験者数設計の方法論は、患者様から直接に得られた現実データを必要とせず、倫理面への配慮は必要ないとする。

C. 研究結果

被験者数が 5, 10, 15, 20, 25 例の場合において、諸種の対立仮説の組み合わせで算出した検出力の結果を抜粋して、それぞれ表 1, 表 2, 表 3, 表 4, 表 5 に示した。

いずれの表においても、帰無仮説で設定した H_{0A} 「全例のうち、新生歯槽骨が増加する被験者の占める真の割合=0.05」、 H_{0B} 「全例のうち、臨床的アタッチメントを獲得する被験者の占める割合=0.05」、 H_{0C} 「全例のうち、プロービングデプスが改善する被験者の占める真の割合=0.05」と、対立仮説 (当該試験の被験治療で期待される有効性) の設定: H_{1A} 「全例のうち、新生歯槽骨が増加する被験者の占める真の割合」、 H_{1B} 「全例のうち、臨床的アタッチメントを獲得する被験者の占める割合」、 H_{1C} 「全例のうち、プロービングデプスが改善する被験者の占める真の割合」の差が大きくなるほど、また、被験者数が大きくなるほど、検出力は増加した。

また、成功 (効果あり) の判定方法として、複数の評価項目を許容し、いずれかの項目で統計的な有意性を主張できるようなデザインを規定することで、帰無仮説と対立仮説の差がそれほど大きくななくても、5~25 例の小規模な試験でも相応の検出力が確保できることが示唆された。

D. 考察

再生医療に関する多くの臨床研究は、諸種の動物実験を経た直後の first-in-man 試験であり、被験者数は少数であることが多い。このような場合の統計的デザイン (とくに、目標被験者数の設計) は、これまで症例集積可能性の視点から設定されることが多かった。本研究では、複数の有効性評価項目を許容する被験者数設計の方法論を提示し、シミュレーションでその性能を評価した。ここでの検討結果は、仮に症例集積可能性の視点から被験者数が設定されたとしても、安全性・有効性評価の視点からその設定の根拠付けの一助となると考えられる。

E. 結論

本研究で提示した有効性評価のための被験者数設計の方法論は、要約統計量としての「割合 (proportion)」に基づいて開発された。現実には、安全性及び有効性に関する評価項目の型には、連続データをはじめ (順序) カテゴリカルデータなどがある。今後は、これらの型に対応する被験者数設計の方法をも開発していくことが必須である。

F. 健康危機情報

該当せず

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Daimon, T., Zohar, S., and O'Quigley, J. (2011). Posterior maximization and averaging for Bayesian working model choice in the continual reassessment method. *Statistics in Medicine* (in press).
- 2) Kainuma, S., Taniguchi, K., Toda, K., Funatsu, T., Kondoh, H., Nishino, M., Daimon, T., and Sawa, Y. (2011). Pulmonary hypertension predicts adverse cardiac events following restrictive mitral annuloplasty for severe functional mitral regurgitation. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* (in press).
- 3) 手良向聡・大門貴志 (2010). 産業界および FDA スタッフのためのガイダンス 医療機器の臨床試験における Bayes 流統計学の利用に関するガイダンス (翻訳) [Guidance for Industry and FDA Staff Guidance for the Use of Bayesian Statistics in Medical Device Clinical Trials, U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Devices and Radiological Health Division of Biostatistics, Office of Surveillance and Biometrics Center for Biologics Evaluation and Research: Document issued on: February 5, 2010]. *臨床評価* 38(2), 291-326.
- 4) 手良向聡・大門貴志 (2010). FDA 「医療機器の臨床試験における Bayes 流統計学の利用に関するガイダンス」について (解説). *臨床評価* 38(2), 327-334.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む)

1. 特許取得
該当せず.
2. 実用新案登録
該当せず.
3. その他
該当せず.

厚生労働科学研究費補助金（再生医療実用化研究事業）
分担研究報告書

ヒト脂肪組織由来幹細胞の硬組織形成能力の解析に関する研究

分担研究者 齋藤 正寛 東京理科大学基礎工学部生物工学科・准教授

研究要旨 「歯科再生医療拠点を活用した次世代型歯周組織再生療法の開発」を開発するために、マウス頭蓋冠欠損モデルを用いたヒト脂肪組織由来幹細胞（ADSC）製剤の骨再生能力判定試験の確立を試みた。ADSC細胞を移植する目的に、コラーゲンゲル、ボルヒール、PGLA-コラーゲンスポンジに播種し、マウス頭蓋冠欠損部に移植した。一ヶ月後に移植片を解析した結果、移植部位においてADSC細胞の定着を観察できたが、少量の新生骨形成のみが認められた。一方、細胞を移植していない部位では骨再生は認められなかった。以上の結果より、ADSC細胞の骨再生能力は認められたものの、その効果が低かったため、その骨再生能力を高める移植プロトコール作成の必要性が考えられた。今後はADSC細胞の骨形成能力を損なわず移植できるscffoldを開発する必要性が考えられた。

A. 研究目的

細胞の製剤化を視野に、医薬品GCP（平成9年厚生省令第28号「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令」）と等しいレベルでの科学性を確保した評価系を確立するための昨年度まで、「ヒト脂肪組織由来幹細胞の硬組織形成能力の解析に関する研究の確立を行ってきた。しかし前年度の課題として、ADSC製剤の再生に適したscaffoldの評価系が存在しないため、ADSC製剤の生体内における骨再生能力を詳細に検討する事が不可能であった。そこで本年度は、ADSC製剤の骨再生能力を引き出すのに有効なscaffoldの選別と、マウス頭蓋冠欠損モデルによる同評価系の確立を試みた。そこで以下に記す動物モデルを用いて研究を行った。

B. 研究方法

（1）ADSCの scaffold への接着

増殖期のADSCを 1×10^6 cellsの細胞濃度でコラーゲンゲル（高研）内あるいはPGLA/コラーゲンシートに播種し、24時間後に細胞接着確認に移植実験に使用した。またヒトフィブリン製剤である

ボルヒール（アステラス製薬）に関しては、同じく 1×10^6 cellsのADSCを移植直前に懸濁し、フィブリンゲル化した後に、移植実験に使用した。

（2）頭蓋冠欠損モデルを用いた移植実験

ADSCの骨再生能力を判定するため、頭蓋冠欠損モデルを用いて解析した。具体的には免疫不全マウスの頭蓋冠にトレフィンバーを用いて直径3mmの骨欠損を作製した。次に、各種scaffoldに播種したADSCを欠損部位に播種した。一ヶ月後に移植片を取り出し、組織化学的に骨再生能力を判定した。

（3）骨形成能力の評価

移植部位を脱灰後にパラフィン標本を作成し、HE染色ならびに抗ヒトビメンチン抗体による免疫染色にて、移植部位における骨再生量を判定した。

（倫理面への配慮）

本動物実験は、東京理科大学動物実験委員会の承認を得た上で行われた。

C. 研究結果

1. 動物モデルを用いた ADSC の歯槽骨再生能力の評価

各種 scaffold で培養した ADSC の骨再生能力を判定する目的で、マウス頭蓋冠欠損部位に移植実験を行った。ADSC 移植による骨再生能力をマイクロ CT で判定した結果、ボルヒールを用いた移植部位と骨欠損部位の境界面でわずかな新生骨の形成が観察された。一方、細胞を移植していない群においては、骨欠損部位に肉芽組織が形成されており、十分な新生骨の形成は観察されなかった。

2. 移植部位における ADSC の骨再生能力の評価

ボルヒール/ADSC 移植片を HE 染色にて解析した結果、骨組織形成が観察された。また抗ヒトビメンチン抗体を用いた免疫染色の結果より、ADSC により再生された骨組織は、レシピエントの骨組織と連続していることが観察された。

D. 考察

本マウス頭蓋冠欠損モデルにボルヒール/ADSC を移植することにより、骨再生を誘導出来る事が判明した。しかし ADSC の骨再生能力を十分に発揮することは出来ず、欠損部に十分な骨再生を誘導することが出来なかった。

今後の課題として、ADSC の骨再生能力を誘導出来る 3 次元培養技術あるいは新たな scaffold の選択の必要性が考えられた。

本実験において、ADSC の骨再生能力を十分に検討することは出来なかったがボルヒールが ADSC 移植用の足場として適性を示唆する結果を得た。従って同生体材料が、ADSC の骨再生能力の判定に有用な生体材料候補の一つになると思われる。

E. 結論

マウス頭蓋冠モデルを用いて ADSC の骨再生能力を判定するプロトコル確立を試みた。ボルヒール

ールを用いた ADSC の骨再生能力は、「歯科再生医療拠点を活用した次世代型歯周組織再生療法の開発」の評価系に適していることが確認された。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

論文発表

1. A.Matsumoto, H. Harada, M.Saito, A. Taniguchi Induction of enamel matrix protein expression in an ameloblast cell line co-cultured with a mesenchymal cell line in vitro. 2010, In Vitro Cell Dev Biol Anim. in press
2. M.Saito, T. Tsuji “Tooth regeneration therapy” as a next generation of regenerative medicine. 2010, Quint. International., in press
3. G.Ganburged ,N. Suda, M.Saito, Y.Yamazaki, K.Isokawa, K.Moriyama. Dilated capillaries, disorganized collagen fibers and differential gene expression in periodontal ligaments of hypomorphic fibrillin-1 mice. 2010, Cell Tissue Res.Sep;341(3):381-95.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

厚生労働科学研究費補助金（再生医療実用化研究事業）
分担研究報告書

歯周組織を温存することによる全身の健康増進への寄与に関する調査研究

研究分担者 松下 健二 国立長寿医療センター研究所 部長

研究要旨

自分の歯を温存し、永く自分の歯で食べられることは、健康寿命の延伸のために必須であり、「すべての高齢者が家族と社会のつながりの中で生涯に渡り生活を楽しむことのできる社会の構築」（「新成長戦略」）のための基盤となる。本研究では、本研究では、歯周組織の健全性を維持し、自分の歯を残すことの意義について、社会医学的に検討した。特に、質の高いコミュニティチーム医療を提供するためするために必要な情報収集とそれを実証するための地域支援型オーラルヘルスプロモーション技法の検討を行った。兵庫県内の2地区の地域高齢住民を対象にした調査の結果、高齢者口腔の健康に対する意識と口腔の健康、特に歯周組織の健康度が高まるにつれ、認知機能が改善されることが明らかになった。

A. 研究目的

健全歯数あるいは残存歯数とMMSEスコアとの有意な相関が示されているが、因果関係を明らかにした研究は殆ど見受けられず、高齢者における歯周病治療の重要性や歯を残す意義が明確でない。本研究の目的は、口腔の健康維持、特に歯周組織の健康維持・向上が認知機能等にどのような影響を及ぼすかを検討し、歯周組織の健康維持の重要性について明らかにすることを目的とする。合わせて、口腔セルフケア能力の向上であり、口腔健康行動が生涯にわたって維持できるよう、地域の生活者の視点に立った環境づくりを目指す。

B. 研究方法

兵庫県内の2地区（A地区、B地区）の地域高齢住民（58名）を対象に、①QOL（全身SF-8、口腔GOHAI）、②属性、既往、現

疾患、生活、口腔健康習慣、③心理検査（POMS）、④認知機能検査（MMSE-J）、⑤口腔健診（歯科疾患、口腔細菌検査）、⑥口腔機能の調査を行うとともに、その調査結果をもとにして、個別指導の方針を決定する。ついで、それをもとに口腔健康維持に関する講義とともに、個別指導、グループ指導をおこなう。その後、3ヶ月、6ヶ月ごとに再度先の検査項目について再調査を行い、介入前後における変化を検討する。

（倫理面への配慮）

今回、兵庫県立大学の倫理委員会においてそれぞれ承認された実験計画をもとに行われた疫学研究のデータある。また、本研究データ取得に当たっては、被験者すべてインフォームドコンセントが得られている。

C. 研究結果

口腔の健康度に関しては、両地区の住民とも3ヶ月後の検診時において、一部のパラメータにおいて改善が認められた。特に、処置歯数の増加とともに、歯石の減少、歯周病の低下が認められた。加えて、セルフケア行動の改善も見受けられ、一日の口腔清掃回数の増加とデンタルフロス使用頻度の増加が認められた。さらに、認知機能(MMSE)の改善とともに、心理状態の変化も顕著に認められた。

D. 考察

今回の小規模コミュニティにおける口腔健康指導の結果、口腔の健康改善、特に歯周組織の健康度が高まるとともに、認知機能や心理面においても短期間で改善が認められることが明らかになった。これまでも、健全歯数あるいは残存歯数と MMSE スコアとの有意な相関が示されているが、因果関係を明らかにした研究は殆ど見受けられない。本研究の結果、認知機能の低下予防あるいは改善に歯周組織の健康増進が寄与する可能性が示唆された。今後、具体的にどのような因子が因果関係をもって関与するのかを詳細に検討する予定である。また、テーラーメイドのきめ細かい指導が、個々のモチベーションを効果的に高めることができた可能性がある。加えて、参加者がお互いにコミュニケーションをとりながら助け合うこと、また切磋琢磨することが認知機能の改善にもつながった可能性が考えられた。

E. 結論

高齢者における歯周組織の健康増進は、全身の健康にも寄与する可能性が示唆された。また、コミュニティにおける口腔の健康指導は、セルフケア意識を高め、口腔健康行動を向上するとともに、個々の全身の健康管理向上につながることを示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. 松下健二：口腔のアンチエイジングとリハビリテーション *Monthly Book Medical Rehabilitation* 124: 127-134, 2010.
2. 松下健二：高齢化社会の中でインプラントをどう考えるか？ *歯界展望* 116(5): 2010-2011, 2010.
3. 松下健二：血管障害を基盤とした歯周病と糖尿病の関連性 *肥満と糖尿病* 9(5): 729-731, 2010.
4. 今井剛、西永正典、中村知子、奥宮清人、松林公蔵、土居義典、松下健二：高齢者住民における保有歯数と認知機能. *愛院大歯誌* 48:59-66,2010.
5. 今井剛、西永正典、松下健二：高齢者の残存歯数と認知機能との関連性. *鹿児島大学医学雑誌*, 61(3):47-51, 2010.
6. 松下健二：高齢者の口腔・歯科疾患と免疫能 *高齢者の口腔機能とケア Advances in Aging and Health Research* 2009 財団法人長寿科学振興財団, p79-87, 2010.
7. Abiko Y, Sato T, Matsushita K, Sakashita R, Takahashi N: Porphyromonas gingivalis is widely distributed in subgingival plaque biofilm of elderly subjects, Ed. Sasano T, Suzuki O in: *Interface Oral Health Science* 2009 3:240-242, 2010.
8. Kanno Y, Ishisaki A, Nakajima K, Nishihara T, Toyoshima T, Okada K, Ueshima S, Matsushita K, Matsuo O, Matsuno H: Plasminogen/plasmin modulates bone metabolism by regulating the osteoblast and osteoclast function. *J Biol Chem*, 86(11):8952-8960, 2011
9. Sugiyama M, Iohara K, Wakita H, Hattori H, Ueda M, Matsushita K, Nakashima M: Dental Pulp Derived CD31-/CD146- Side Population Stem/Progenitor Cells Enhance Recovery of Focal Cerebral Ischemia in Rats. *Tissue Engineering*, in press.
10. Iohara K, Imabayashi K, Ishizaka R, Watanabe A, Nabekura J, Ito M, Matsushita K, Nakamura H, Nakashima M: Complete pulp regeneration after pulpectomy by transplantation of CD105+ stem cells with SDF-1. *Tissue Eng Part A*, in press.

2. 学会発表

1. 松下健二：オーラルヘルスプロモーションのこれから -口腔健康行動におけるコミュニティチーム医療 - 日本健康心理学

- 会第23回大会シンポジウム 2010年9月11日, 千葉
2. 松下健二: NOと歯周病 第3回東京アンチエイジングアカデミー 2010年6月5日, 東京
 3. 松下健二: 血管を健康に保つエイジングケアのすすめ 健康長寿の原点は血管から 第13回生活習慣病対策研究会市民講座 2009年11月21日, 大阪
 4. 松下健二: 凝固第 Xa 因子の病態への関与とその制御 -基礎研究者の立場から- 第3回 Bayer Thrombosis Seminar 「血栓形成と凝固第 Xa 因子」 2010年4月22日, 鹿児島
 5. 杉浦進介, 石原裕一, 小松寿明, 萩原真, 谷川順美, 水谷大樹, 加藤佳子, 江口傑徳, 野口俊英, 松下健二: バルプロ酸は HMGB1の能動放出を誘導して、エンドトキシショックに対する感受性を高める 第16回に本エンドトキシン・自然免疫研究会 2010年11月13日, 奈良
 6. 今林貴代美, 庵原耕一郎, 石坂亮, 江波久哲, 松下健二, 中村洋, 中島美砂子: 歯髄幹細胞を用いた抜髄後歯髄再生のタンパク化学的解析による証明 第132回日本歯科保存学会春季学術大会 2010年6月5日, 熊本
 7. 庵原耕一郎, 石坂亮, 今林貴代美, 江場久哲, 松下健二, 中村洋, 中島美砂子: 歯髄CD105陽性細胞を用いた抜髄後歯髄再生法の確立 第132回日本歯科保存学会春季学術大会 2010年6月5日, 熊本
 8. 江場久哲, 中島美砂子, 庵原耕一郎, 松下健二, 中田和彦, 中村洋: MMP-3 はイヌ一部性歯髄炎モデルにおいて歯髄治癒を促進する 第132回日本歯科保存学会春季学術大会 2010年6月5日, 熊本
 9. 杉浦進介, 江口傑徳, 萩原真, 小松寿明, 谷川順美, 野口俊英, 松下健二: バルプロ酸 (VPA)は ERK 1/2 の活性化を介して High Mobility Group Box 1(HMGB1)の産生を誘導する 第33回日本血栓止血学会学術集会 2010年4月24日, 鹿児島
 10. Matsushita K, Morrell CN, Mason, EL, O'Rourke B, Champion HC, and Lowenstein CJ: Angiotensin II Activates Endothelial Exocytosis by Stimulating Superoxide Production 第33回日本血栓止血学会学術集会 2010年4月24日, 鹿児島
 11. 松下健二: よく老いるための血管生物学のすすめ -歯周病は血管病である-北海道医療大学個体差研セミナー. 2009年1月8日, 北海道
 12. Komatsu T, Nagano K, Sugiura S, Hagiwara M, Tanigawa N, Eguchi T, Yoshimura F, Furuichi Y, Matsushita K: E-selectin mediates *Porphyromonas gingivalis* adherence to endothelial cells. The 96th Annual Meeting of American Academy of Periodontology. Oct 31, 2010, Honolulu, HI, USA.
 13. Sugiura S, Ishihara Y, Komatsu T, Hagiwara M, Tanigawa N, Eguchi T, Mizutani H, Matsushita K, Noguchi T: Valproic acid enhances innate immune response to LPS by HMGB1 release. The 96th Annual Meeting of American Academy of Periodontology. Oct 31, 2010, Honolulu, HI, USA.
 14. Komatsu T, Nagano K, Sugiura S, Hagiwara M, Tanigawa N, Eguchi T, Yoshimura F, Furuichi Y and Matsushita K: E-selectin mediates *Porphyromonas gingivalis* adherence to endothelial cells. 第8回血液・血管オルビス 2010年8月21日 東京

15. Sugiura S, Ishihara Y, Komatsu T, Hagiwara M, Tanigawa N, Mizutani H, Eguchi T, Kawahara K, Maruyama I, Noguchi T and Matsushita K: Valproic acid enhanced innate immune response induced by LPS through stimulating active release of HMGB1. 第8回血液・血管オルビス 2010年8月21日 東京

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

ヒト脂肪組織由来細胞の分化能と安全性に関する解析

分担研究者 阿久津英憲（独）国立成育医療研究センター研究所生殖・細胞医療研究部
室長

研究協力者 牧野初音 （独）国立成育医療研究センター研究所生殖・細胞医療研究部
研究員

研究要旨：本研究班の目的は次世代の歯周組織再生療法を樹立することであり、脂肪組織由来未分化間葉系幹細胞（ADSCs）と至適足場材の移入による新規歯周組織再生療法の確立を目指している。ヒト脂肪組織由来細胞の幹細胞特性を解析し安全な細胞治療へ科学的なエビデンスを与えるとともに、体外培養系における増殖能とゲノムの安定性に及ぼす影響を解析する。ヒト脂肪組織由来細胞の特性と培養維持における安全性に関して明確なエビデンスを抽出し安心、安全な再生療法へ寄与することを目的とする。

A. 研究目的

ヒト脂肪組織から間葉系幹細胞の樹立が報告されている。脂肪組織由来未分化間葉系幹細胞（ADSCs）は、患者自身の体表に近い皮下組織から比較的安全に採取できる可能性が高く、細胞治療の自家（あるいは他家）移植細胞ツールとして非常に期待されている。より明確な ADSCs の特性を得て安心で安全な再生療法のツールとすることを目的にヒト脂肪組織由来細胞の特性を解析するとともに体外培養環境下での細胞の安定性を評価していく。培養による ADSCs の特性評価としてのアレイ CGH 法について検討を行う。

B. 研究方法

分担研究者らは国立成育医療研究センター・倫理委員会（受付番号 25, 26, 27, 49, 55, 全て平成 15 年、受付番号 146、平成 17 年 4 月承認、受付番号 156、平成 17 年 7 月承認）にて、承認を受けたヒト組織（成育バイオリソース：臍帯、羊膜、胎盤、子宮内膜、指、眼球、軟骨等）の間葉系細胞を単離、培養を行っている。それらの遺伝子発現プロファイリングなど細胞の規格化に関する研究成果の蓄積は既に行われ、世界的に見ても希少な小児や周産期組織に由来する膨大な質の高い細胞ライブラリーが“成育バイオリソース”として整備されており、

極めて重要なバイオリソースを有している。

1. ヒト脂肪組織由来細胞のゲノム解析

ヒトから採取された細胞又はそれより由来する細胞で多分化能と自己複製能力を有する細胞である造血系幹細胞や間葉系幹細胞などの組織幹細胞は移植のために絶対的な細胞数の確保が必要である。そのため培養工程が長期にわたるケースがありえるが、細胞移植効果の有効性が担保されるには培養工程での幹細胞形質転換がない性質が保持されていることを検証する必要がある。幹細胞ゲノム解析として染色体核型解析が行われてきたが、そのゲノム解析解像度は 5-10Mb 程度であり、一方より微細な領域のコピー数変化も検出できる DNA マイクロアレイを用いたアレイ CGH 解析が開発され、10-100kb レベルのゲノム変化を検出可能である。ADSCs を培養過程で継時的なサンプル抽出ポイントを設定し、Agilent 社製の Human Genome CGH マイクロアレイ 1x244K を用いてゲノムコピー数変化を解析した。

C. 結果

発生学的にみて脂肪組織には間葉系由来の幹細胞を含むと強く示唆され、Gomillion and Burg により脂肪組織由来細胞が間葉系幹細胞のポテンシャルを持つことが報告された。しかし、ADSCs の幹細胞特性に関し

てその全貌が明かされたわけではなく、特に細胞治療ツールとして応用する場合、培養維持する過程での細胞性質がどのように変化するか早急にその知見を獲得する必要がある。ADSCs は増殖性から同種移植用の細胞ソースで非常に重要であることから、安全、安心な再生医療を目指し培養工程での幹細胞性質安定性評価は極めて重要である。

今回、ADSCs の培養サンプルを Agilent 社製の Human Genome CGH マイクロアレイ 1x244K を用いてハイブリダイゼーションを行い、データの解析は Agilent 社製の Genomic Workbench ver. 5.0.14 にて行った。コピー数変化 (Aberration) 領域内に 3 つ以上のプローブを持つものを Aberration として検出することとし、Log2Ratio が 0.3219 (1.25 倍) よりも絶対値が大きいものを Aberration と判定した。ADSCs の通常の培養では、培養前のサンプル (D0) と培養 7 日目 (D7)、14 日目 (D14) そして 21 日目 (D21) の 3 ポイントでもコピー数変化領域は検出されなかった。

D. 結論

ADSCs 培養工程で長期 (21 日間) 渡る継続的な培養でもゲノムコピー数変化領域は検出されなかった。安定的に安全に品質が担保されていることが判明した。今後は、幹細胞から目的の細胞を得るために誘導操作工程を付加した場合の検証も考慮する必要があるが、本研究班で行っている ADSCs 培養が幹細胞ゲノムに安定的であることが示唆された。ADSCs の幹細胞特性を詳細に解析することは細胞治療ツールとするために早急に行う必要あり、移植に必要な細胞数や性質を保持する細胞を得るために安定的な培養環境を整備し、ヒト脂肪組織由来幹細胞の開発研究を展開していく。

E. 健康危害情報

本研究による健康危害情報はなかった。

F. 研究発表

1. 著書

なし

2. 論文発表

- 1) Inamura M, Kawabata K, Takayama K, Tashiro K, Sakurai F, Katayama K, Toyoda M, **Akutsu H**, Miyagawa Y, Okita H, Kiyokawa N, Umezawa A, Hayakawa T, Furue MK, Mizuguchi H. Efficient Generation of Hepatoblasts From Human ES Cells and iPS Cells by Transient Overexpression of Homeobox Gene HEX. *Mol Ther.* 2011; 19(2): 400-407.
- 2) Chowdhury MM, Katsuda T, Montagne K, Kimura H, Kojima N, **Akutsu H**, Ochiya T, Fujii T, Sakai Y. Enhanced effects of secreted soluble factor preserve better pluripotent state of embryonic stem cell culture in a membrane-based compartmentalized micro-bioreactor. *Biomed Microdevices.* 2010; 12(6):1097-1105.
- 3) Sasaki N, Hirano T, Kobayashi K, Toyoda M, Miyakawa Y, Okita H, Kiyokawa N, **Akutsu H**, Umezawa A, Nishihara S. Chemical inhibition of sulfation accelerates neural differentiation of mouse embryonic stem cells and human induced pluripotent stem cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010; 401(3):480-486.
- 4) Nishino K, Toyoda M, Yamazaki-Inoue M, Makino H, Fukawatase Y, Chikazawa E, Takahashi Y, Miyagawa Y, Okita H, Kiyokawa N, **Akutsu H**, Umezawa A. Defining hypo-methylated regions of stem cell-specific promoters in human iPS cells derived from extra-embryonic amnions and lung fibroblasts. *PLoS One.* 2010; 5(9): e13017
- 5) Adachi T, Wang X, Murata T, Obara M, **Akutsu H**, Machida M, Umezawa A, Tomita M. Production of a non-triple helical collagen alpha chain in transgenic silkworms and its evaluation as a gelatin substitute for cell culture. *Biotechnol Bioeng.* 2010; 106(6): 860-870.
- 6) Stadtfeld M, Apostolou E, **Akutsu H**, Fukuda A, Follett P, Natesan S, Kono T, Shioda T, Hochedlinger K. Aberrant silencing of imprinted genes on

chromosome 12qF1 in mouse induced pluripotent stem cells. *Nature*. 2010; 465(7295):175-181.

3.学会発表

1) **H Akutsu**. "Xeno-Free Growth and Expansion of Human Pluripotent Stem Cells", Commercial Tutorial Directory; ISSCR 8th annual meeting, San Francisco, CA USA. 18th Jun, 2010.

2) 阿久津英憲:「臨床グレード幹細胞樹立の試み」第28回日本ヒト細胞学会学術集会シンポジウム, つくば市, 8月23日, 2010年.

3) **H Akutsu**. "xeno-free growth and expansion of human pluripotent stem cells", Symposium 7; The 23rd Annual and International Meeting of the Japanese Association for Animal Cell Technology, Sapporo, 1st-4th Sep, 2010.

4) 阿久津英憲:「網羅的発現解析から見出したES細胞とiPS細胞の相関性と研究者」第28回JMACワーキンググループ会議, 東京, 9月22日, 2010年.

5) 阿久津英憲:「臨床応用に使える、ヒトES細胞とヒトiPS細胞とは何か?」BTJプロフェッショナルセミナー iPS細胞/ヒトES細胞臨床研究の落とし穴、次世代の医療に必要な技術突破, 東京, 12月21日, 2010年.

6) 阿久津英憲:「ヒトES細胞の臨床応用を可能にする技術開発と課題」再生医療の実現化プログラム関連事業・公開ワークシ

ョップ ヒト多能性幹細胞の医療応用と輪唱研究指針の改訂—研究開発と規制のシンクロニーを目指して—, 神戸, 2月17日, 2011年.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

該当なし

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
北村正博 村上伸也	総論一歯周病と全身疾患	医学のあゆみ	232(3)	159-166	2010
山田 聡	ヒト歯根膜遺伝子発現プロファイルより見出された歯根膜特異的分子PLAP-1の解析	阪大歯学雑誌	55(1)	7-10	2010
Komoda H, Okura H, C. M. Lee, Sougawa N, Iwayama T, Hashikawa T, Saga A, Yamamoto-Kakuta A, Ichinose A, Murakami S, Sawa Y, Matsuyama A	Reduction of N-glycolylneuraminic acid xenoantigen on human adipose tissue-derived stromal cells/mesenchymal stem cells leads to safer and more useful cell sources for various stem cell therapies.	Tissue Eng Part A	16(4)	1143-1155	2010
Yanagita M, Kojima Y, Kawahara T, Kajikawa T, Oohara H, Takedachi M, Yamada S, Murakami S	Suppressive effects of nicotine on the cytodifferentiation of murine periodontal ligament cells.	Oral Diseases	16	812-817	2010
Fujihara C, Yamada S, Ozaki N, Takashita N, Kawaki H, Takano-Yamamoto T, Murakami S	Role of Mechanical stress-induced glutamate signaling-associated molecules in cytodifferentiation of periodontal ligament cells.	J Biol Chem	285(36)	28286-28297	2010
Shimabukuro Y, Terashima H, Takedachi M, Maeda K, Nakamura T, Sawada K, Kobashi M, Awata T, Oohara H, Kawahara T, Iwayama T, Hashikawa T, Yanagita M, Yamada S, Murakami S	Fibroblast growth factor-2 stimulates directed migration of periodontal ligament cells via PI3/Akt signaling and CD44/hyaluronan interaction.	J. Cell. Physiol	226	809-821	2010
Anzai J, Kitamura M, Nozaki T, Nagayasu T, Terashima A, Asano T, Murakami S	Effects of concomitant use of fibroblast growth factor (FGF)-2 with beta-tricalcium phosphate (β-TCP) on the beagle dog 1-wall periodontal defect model	Biochem. Biophys. Res. Commun	403	345-350	2010

<u>Murakami S</u>	Periodontal Tissue Regeneration by signalling molecule(s)- What role does basic fibroblast growth factor (FGF-2) have in periodontal therapy?	Periodontology 2000	56	188 - 208	2010
北村正博 村上伸也	口腔疾患と全身とのかわり	ファルマシア	46(10)	923-927	2010
Kitamura M, Akamatsu M, Machigashira M, Hara Y, Sakagami R, Hirofuji T, Hamachi T, Maeda K, Yokota M, Kido J, Nagata T, Kurihara H, Takashiba S, Shibutani T, Fukuda M, Noguchi T, Yamazaki K, Yoshie H, Ioroi K, Arai T, Nakagawa T, Ito K, Oda S, Izumi Y, Ogata Y, Yamada S, Shimauchi H, Kunimatsu K, Kawanami M, Fujii T, Furuichi Y, Furuuchi T, Sasano T, Imai E, Omae M, <u>Yamada S</u> , Watanuki M, <u>Murakami S</u>	FGF-2 stimulates periodontal regeneration: Results of a multi-center randomized clinical trial	J Dent Res	90(1)	35-40	2011
北村正博	歯周組織再生療法を理解しようー理論からメインテナンスまでー	大阪府歯科衛生士会 学術誌	20	9-12	2011
Okura H, Saga A, Fujimimoto Y, Soeda M, Moriyama M, Moriyama H, Nagai K, <u>Lee CM</u> , Yamashita S, Ichinose A, Hayakawa T, Matsuyama A	Transplantation of human adipose tissue-derived multilineage progenitor cells reduces serum cholesterol in hyperlipidemic watanabe rabbits.	Tissue Eng Part C Methods	17(2)	145-154	2011
Miyagawa S, Saito A, Sakaguchi T, Yoshikawa Y, Yamauchi T, Imanishi Y, Kikawaguchi N, Teramoto N, Matsuura N, Iida H, Shimizu T, Okano T, <u>Sawa Y</u>	Impaired myocardium regeneration with skeletal cell sheets--a preclinical trial for tissue-engineered regeneration therapy.	Transplantation	90(4)	364-372	2010

Okura H, Matsuyama A, <u>Lee CM</u> , Saga A, Kakuta-Yamamoto A, Nagao A, Sougawa N, Sekiya N, Takekita K, Shudo Y, Miyagawa S, Komoda H, Okano T, <u>Sawa Y</u>	Cardiomyoblast-like cells differentiated from human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells improve left ventricular dysfunction and survival in a rat myocardial infarction model	Tissue Eng Part C Methods	16(3)	417-425	2010
Kitabayashi K, Siltanen A, Pätälä T, Mahar MA, Tikkanen I, Koponen J, Ono M, <u>Sawa Y</u> , Kankuri E, Harjula A	Bcl-2 Expression Enhances Myoblast Sheet Transplantation Therapy for Acute Myocardial Infarction.	Cell Transplantation	19(5)	573-588	2010
Hata H, Bär A, Dorfman S, Vukadinovic Z, <u>Sawa Y</u> , Haverich A, Hilfiker A	Engineering a novel three-dimensional contractile myocardial patch with cell sheets and decellularised matrix	Eur J Cardiothorac Surg	38(4)	450-455	2010
<u>Daimon, T</u> , Zohar, S, O'Quigley, J.	Posterior maximization and averaging for Bayesian working model choice in the continual reassessment method.	Statistics in Medicine		In press	2011
Kainuma, S, Taniguchi, K, Toda, K, Funatsu T, Kondoh H, Nishino M, <u>Daimon T</u> , Sawa Y	Pulmonary hypertension predicts adverse cardiac events following restrictive mitral annuloplasty for severe functional mitral regurgitation.	Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery		In press	2011
Matsumoto A, Haraada H, <u>Saito M</u> , Taniguchi A.	Induction of enamel matrix protein expression in an ameloblast cell line co-cultured with a mesenchymal cell line in vitro	In Vitro Cell Dev Biol Anim		In press	2010
<u>Saito M</u> , Tsuji T	"Tooth regeneration therapy" as a next generation of regenerative medicine.	Quint. International		In press	2010
Ganburged G, Suda N, <u>Saito M</u> , Yamazaki Y, Isokawa K, Moriama K.	Dilated capillaries, disorganized collagen fibers and differential gene expression in periodontal ligaments of hypomorphic fibrillin-1 mice.	Cell Tissue Res	341(3)	381-395	2010

松下健二	高齢化社会の中でインプラントをどう考えるか?	歯界展望	116(5)	2010-2011	2010
松下健二	血管障害を基盤とした歯周病と糖尿病の関連性	肥満と糖尿病	9(5)	729-731	2010
今井剛、西永正典、中村知子、奥宮清人、松林公蔵、土居義典、松下健二	高齢者住民における保有歯数と認知機能	愛院大歯誌	48	59-66	2010
今井剛、西永正典、松下健二	高齢者の残存歯数と認知機能との関連性	鹿児島大学医学雑誌	61(3)	47-51	2010
松下健二	高齢者の口腔・歯科疾患と免疫能 高齢者の口腔機能とケア	Advances in Aging and Health Research 2009		79-87	2010
Abiko Y, Sato T, Matsushita K, Sakashita R, Takahashi N	<i>Porphyromonas gingivalis</i> is widely distributed in subgingival plaque biofilm of elderly subjects,	Interface Oral Health Science 2009	3	240-242	2010
Kanno Y, Ishisaki A, Nakajima K, Nishihara T, Toyoshima T, Okada K, Ueshima S, Matsushita K, Matsuo O, Matsuno H	Plasminogen/plasmin modulates bone metabolism by regulating the osteoblast and osteoclast function,	J Biol Chem	286(11)	8952-8960	2011
Sugiyama M, Iohara K, Wakita H, Hattori H, Ueda M, Matsushita K, Nakashima M	Dental Pulp Derived CD31 ⁻ /CD146 ⁻ Side Population Stem/Progenitor Cells Enhance Recovery of Focal Cerebral Ischemia in Rats.	Tissue Engineering	17(9-10)	1303-1311	2011
Iohara K, Imabayashi K, Ishizaka R, Watanabe A, Nabekura J, Ito M, Matsushita K, Nakamura H, Nakashima M	Complete pulp regeneration after pulpectomy by transplantation of CD105 ⁺ stem cells with SDF-1.	Tissue Engineering		In press	2011
Inamura M, Kawabata K, Takayama K, Tashiro K, Sakurai F, Katayama K, Toyoda M, Akutsu H, Miyagawa Y, Okita H, Kiyokawa N, Umezawa A, Hayakawa T, Furue MK, Mizuguchi H	Efficient Generation of Hepatoblasts From Human ES Cells and iPS Cells by Transient Overexpression of Homeobox Gene HEX	Mol Ther	19	400-407	2011

Chowdhury MM, Katsuda T, Montagne K, Kimura H, Kojima N, Akutsu H, Ochiya T, Fujii T, Sakai Y	Enhanced effects of secreted soluble factor preserve better pluripotent state of embryonic stem cell culture in a membrane-based compartmentalized micro-bioreactor.	Biomed Microdevices	12	1097-1105	2010
Sasaki N, Hirano T, Kobayashi K, Toyoda M, Miyakawa Y, Okita H, Kiyokawa N, Akutsu H, Umezawa A, Nishihara S.	Chemical inhibition of sulfation accelerates neural differentiation of mouse embryonic stem cells and human induced pluripotent stem cells.	Biochem Biophys Res Commun	401	480-486	2010
shino K, Toyoda M, mazaki-Inoue M,okino H, Fukawatase Chikazawa E, kahashi Y, Miyagawa Okita H, Kiyokawa Akutsu H, Umezawa	Defining hypo-methylated regions of stem cell-specific promoters in human iPS cells derived from extra-embryonic amnions and lung fibroblasts.	LoS One	5	e13017	2010
Adachi T, Wang X, Murata T, Obara M, Akutsu H, Machida M, Umezawa A, Tomita M.	Production of a non-triple helical collagen alpha chain in transgenic silkworms and its evaluation as a gelatin substitute for cell culture.	Biotechnol Bioeng.	106	860-870	2010
Stadtfeld M, Apostolou E, Akutsu H, Fukuda A, Follett P, Natesan S, Kono T, Shioda T, Hochedlinger K.	Aberrant silencing of imprinted genes on chromosome 12qF1 in mouse induced pluripotent stem cells.	Nature	465	175-181	2010

IV. 研究成果の刊行物・別冊

はじめに

Introduction



村上 伸也

Shinya MURAKAMI

大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座 歯周病分子病態学 歯周病診断制御学

歯科における二大疾患は、う蝕と歯周病である。これらの疾患が慢性感染病巣として遠隔の組織・臓器に影響を及ぼす可能性(歯性病巣感染)については、20世紀初頭にすでに指摘されていたといわれている。しかし、十分な科学的エビデンスが得られないまま、その関連性の真偽に関しては放置されることとなった。そしていま、歯周病と全身疾患・全身状態との関連にあらたに科学のメスが入られている。この学問領域は Periodontal Medicine (歯周医学)とよばれ、歯周病菌による感染症の観点や、歯周組織に惹起される慢性炎症巣という観点から、多くの科学者が基礎研究・疫学研究を精力的に展開している。

歯周病と全身疾患の関連がアメリカの学会などを中心に報告されるようになると、『USA Today』の紙上で、「Floss or Die(フロスをするか死を選ぶか)」とセンセーショナルな言葉でメッセージが寄せられた。また、2006年9月には『Wall Street Journal』の紙上において、「Health Plans Expand Dental Benefits(生活習慣病等への医療費支出抑制を期待し、全米大手の健康保険会社が歯周病治療に対する補償範囲を拡大した)」とのニュースを伝えている。このように、一般国民に歯周病と全身疾患の関連が周知されることとなった。

一方、これらを契機として、より大規模で慎重な疫学調査やメタ解析なども行われるようになり、それまでなされてきた一部の報告に関して証拠不十分とする反論も報告されてきているのも事実である。すなわち、歯周病と全身疾患・全身状態との関連をいま一度慎重に再評価しようとしているのが、いまの世界の実情ではなかろうか。このような状況を受け、NPO 法人日本歯周病学会はエビデンスとコンセンサスをベースにした“糖尿病患者に対する歯周治療ガイドライン”を作成し、歯周病に対する治療の指針を示している(日本歯周病学会ホームページ <http://wwwsoc.nii.ac.jp/jsp2/pub/index.htm> にて公開中)。

本特集では、歯周病と各種の全身疾患・全身状態との関連について継続的かつ精力的に研究を続けておられるわが国の先生方に執筆を依頼し、現時点で得られている臨床的エビデンス、基礎研究の成果を整理していただくとともに、いまこの分野で残されている課題を抽出していただいた。

今回の特集が歯周病と全身疾患・全身状態との関連についての理解を深め、その可能性について再考していただくきっかけとなれば幸いである。また、得られた研究成果をベースにした医科-歯科の連携が推進され、よりよい医療が国民に提供される素地が形成されることを念じてやまない。