

27. 辻 孝: 次世代再生医療である臓器置換再生医療の実現に向けた先端基盤技術の開発, 特許庁先端技術研修, 東京・経済産業省別館1階, 2010年11月19日
28. 辻 孝: 臓器・器官を再生する医療システムの実現を目指して, 第10回山梨再生・移植研究会, 山梨・山梨大学, 2010年11月10日
29. 辻 孝: 臓器置換再生医療としての歯の再生治療の実現を目指して, 慶應義塾大学医学部眼科学教室講演会, 東京・慶應義塾大学医学部, 2010年11月4日
30. 辻 孝: 臓器を再生する医療の実現を目指して, 理科大フォーラム講演, 東京・秋葉原コンベンションホール, 2010年11月2日
31. 辻 孝: 生体内環境と調和・機能する歯科再生治療の実現を目指して, 福岡歯科大学「生体環境を調和する硬組織再建システム」キックオフシンポジウム, 福岡・福岡歯科大学, 2010年10月15日
32. 辻 孝: 臓器・器官を再生する医療システムの実現を目指して, 自治医科大学大学院特別講義, 栃木・自治医科大学, 2010年10月6日
33. 辻 孝: 未来の歯科治療としての歯科再生医療, 栃木歯学研究会, 栃木・ホテルサンルート栃木, 2010年9月7日
34. 辻 孝: 歯科再生医療の実現に向けた研究戦略と進展, 第2回リガク in vivo microCT フォーラム, 東京・日本大学駿河台キャンパス, 2010年8月27日
35. 辻 孝: 未来の歯科医療としての歯科再生医療, 2010年日本自家歯牙移植・外傷歯学研究講演会, 愛知・ナディアパーク・デザインセンター, 2010年8月1日
36. 辻 孝: 臓器置換再生医療の実現を目指して一歯や毛髪再生からアプローチした研究戦略と展開一, 第186回生命科学フォーラム, 東京・日本記者クラブ, 2010年7月28日
37. 辻 孝: 歯科再生治療の実現を目指した「歯の再生」研究の戦略と展開, 第30回昭和歯学会総会, 東京・昭和大学歯科病院, 2010年7月3日
38. 辻 孝: 次世代歯科治療としての歯の再生, 鶴見大学 大学院・研究者セミナー, 神奈川・鶴見大学, 2010年6月29日
39. 辻 孝: 歯の機能的な再生を目指した基盤技術の開発, 第64回日本口腔科学会学術集会, 札幌・札幌プリンスホテル国際館パミール, 2010年6月24日
40. 辻 孝: 歯科再生治療の実現に向けた研究戦略と展開, 第11回九州臨床再生歯科研究会講演会, 福岡・福岡県歯科医師会館, 2010年6月20日
41. 辻 孝: 未来の歯科治療としての歯科再生医療, 日本歯科企業協議会 第39回年次総会, 東京・ホテルグランドパレス, 2010年6月15日
42. 中尾一久, 辻 孝: 臓器置換再生医療に向けた歯の再生の現状と課題, 日本組織培養学会第83回大会, 岡山, 岡山大学創立50周年記念館, 2010年5月21日
43. 辻 孝: 歯の再生に向けた研究の現状とその未来像, 東京都中央区京橋歯科医師会学術講演会, 東京, 京橋プラザ, 2010年5月19日
44. 辻 孝: 未来の歯科医療としての歯科再生医療, 東京歯科大学創立120周年記念学術講演会, 東京, 東京国際フォーラム, 2010年5月8日
45. 辻 孝: 再生歯胚移植による歯の機能的な再生, 第8回日本歯科骨粗鬆症研究会一歯科再生医療と骨粗鬆症一, 東京, 東京医科歯科大学, 2010年4月4日
46. 窪木拓男. 生物学的配慮と臨床事実に基づいた口腔リハビリテーション医学を構築するために一臨床疫学, バイオメカニクス, そしてバイオロジーへ一, 昭和大学歯学部大学院セミナー, 東京 2011年2月4日
47. 福本敏: 歯髄細胞から歯髄幹細胞への誘導と上皮相互作用 (シンポジウム), 第10回日本再生医療学会総会, 東京, 2011年3月
48. 福本敏: GSK-3bを用いた歯髄細胞の未分化誘導法の確立 (シンポジウム), 第3回口腔先端医学会議, 東京, 2011年1月
49. 福本敏: Extracellular signaling regulates tooth morphogenesis, Harverd-Forsyth Research Workshop (シンポジウム), ボストン, 2011年1月

50. 福本敏：歯の形態形成の分子機構（シンポジウム）、第42回日本臨床分子形態学会、三島市、2010年9月
51. 福本敏：エナメル上皮分化における分子制御メカニズム（シンポジウム）、第52回歯科基礎医学会総会、東京、2010年9月
- 一般演題**
1. 仲根綾子、姫野彰子、沼野利佳、高木裕三、山口朗、飯村忠浩：骨成長における概日リズムの可視可、第30回日本骨形態計測学会、米子、2010年5月14日（ゴールドリボン賞、日本骨形態計測学会奨励賞）
 2. 姫野彰子、仲根綾子、和泉雄一、山口朗、飯村忠浩：蛍光イメージングによる骨細胞の形態・機能分化の計測、第30回日本骨形態計測学会、米子、2010年5月14日（ゴールドリボン賞）
 3. 星野昭芳、飯村忠浩、山本健二、山口朗：骨代謝におけるケモカイン受容体(CCR1)の機能解析、第28回日本骨代謝学会学術集会、東京（京王プラザホテル）、2010年7月21日
 4. 新垣 理宣、坂本 啓、勝部 憲一、天笠 光雄、山口朗：角化嚢胞性歯原性腫瘍と正角化歯原性嚢胞におけるケラチン発現とその病態発生における役割、第21回日本臨床口腔病理学会学術大会、大阪歯科大学葛葉学舎、大阪、2010年8月1日
 5. 坂本 啓、森田 圭一、小村 健、山口朗：口腔扁平上皮癌・上皮異形成におけるケラチン発現の網羅的解析、第21回日本臨床口腔病理学会学術大会、大阪歯科大学葛葉学舎、大阪、2010年8月1日
 6. Sakamoto K, Yamaguchi A : Keratin expression in oral squamous cell carcinoma and epithelial dysplasia, 15th International Congress of Oral Pathology and Medicine, Seoul, Korea, 2010年8月18日
 7. Hoshino A, Iimura T, Yamaguchi A: Deficiency of Chemokine Receptor CCR1 Causes Osteopenia Due to Impaired Functions of Osteoclasts and Osteoblasts. Annual Meeting of American Society for Bone and Mineral Research, Toronto, Canada, 2010年9月15日
 8. 山口葉子、小長井和裕、塩田真、春日井昇平. インプラントの初期固定に関する長さとスレッド数の影響. 第30回関東・甲信越支部学術大会 2011. 2. 12-13 パシフィコ横浜 横浜
 9. 宗像源博、立川敬子、則武加奈子、塩田真、春日井昇平. BP 薬剤が関与したと思われるインプラント周囲炎に伴う顎骨壊死の一例. 第30回関東・甲信越支部学術大会 2011. 2. 12-13 パシフィコ横浜 横浜
 10. 作山葵、宗像源博、立川敬子、清水勇氣、春日井昇平. インプラント周囲炎を生じた患者に対する細菌学的検討. 第14回日本顎顔面インプラント学会学術大会 2010.12. 04-05 明海大学浦安キャンパス 浦安
 11. 山口葉子、塩田真、春日井昇平. インプラント維持力の経時的変化に関する模擬骨を用いた実験的研究. 第14回日本顎顔面インプラント学会学術大会 2010. 12. 04-05 明海大学浦安キャンパス 浦安
 12. 原口美穂子、立川敬子、宗像源博、向山仁、春日井昇平、谷口尚。インプラントを応用した下顎顎補綴の長期経過観察—固定性ブリッジ症例と可撤性部分床義歯症例—。第14回日本顎顔面インプラント学会学術大会 2010. 12. 04-05 明海大学浦安キャンパス 浦安
 13. Hao J, Kuroda S, Noritake K, Rodriguez R, Pluemsakunthai W, Chen K, Aoki H, Kasugai S. Effect of local zoledronic acid release from a thin sputtered hydroxyapatite coating on bone implant osteointegration in ovariectomized rats. International Symposium for Apatite and Correlative Biomaterials. 2010.12.10-13, Cairns, Australia
 14. Bhargava S, Kuroda S, Aoki H, Hao J, Noritake K, Ichinose S, Hanawa T, Ohya K, Kasugai S. Influence of sandblasted surface characteristics on initial cell response. I International Symposium for Apatite and Correlative Biomaterials. 2010.12.10-13, Cairns, Australia
 15. Rodriguez R, Hao J, Nyan M, Noritake K, Kuroda S, Kasugai S. Molecular and cellular events in bone regeneration with green tea catechin and alpha tricalcium phosphate. International

- Symposium for Apatite and Correlative Biomaterials. 2010.12.10-13, Cairns, Australia**
16. 原口美穂子、立川敬子、宗像源博、柳沢治之、向山仁、春日井昇平、谷口尚. インプラントを応用した下顎補綴の長期観察 固定性ブリッジ症例と可撤性部分床義歯症例. 日本補綴歯科学会東京支部総会・第14回学術大会 2010.10.16-17 昭和大学 東京
 17. 小奈正弘、若林則幸、Malik Hudieb、春日井昇平、五十嵐順正. マイクロスレッド構造がインプラント周囲骨の応力と歪み分布に及ぼす影響. 日本補綴歯科学会東京支部総会・第14回学術大会 2010.10.16-17 昭和大学 東京
 18. Kimura J, Shiota M, Kon K, Machida T, Fujii M, Kasugai S. Application of hydroxyapatite fiber for bone augmentation. 19th annual Scientific Meeting of European Association for Osseointegration 2010.10.6-7 Glasgow Convention Center, Glasgow, UK
 19. Miyahara T, Nyan M, Shimoda A, Hao J, Rodoriguez R, Kobayashi H, Kuroda S, Shiota M, Akiyoshi K, Kasugai K. Early bone regeneration by novel nanogel cross linking membrane. 19th annual Scientific Meeting of European Association for Osseointegration 2010.10.6-7 Glasgow Convention Center, Glasgow, UK
 20. 北爪孝昌、宗像源博、立川敬子、金井 亨、清水勇氣、作山 葵、春日井昇平. インプラント周囲粘膜厚の臨床的検討. 第53回秋季日本歯周病学会学術大会 2010.9.18-19 高松
 21. 藤井政樹、塩田真、木村純一、今一裕、春日井昇平. 新規吸収性ハイドロキシアパタイトファイバーによる骨造成効果. 第40回日本口腔インプラント学会学術大会 2010.9.17-19 札幌コンベンションセンターおよび札幌市産業振興センター、札幌
 22. 井上一彦、塩田真、松原正典、加藤良一、春日井昇平. インプラントを用いた可撤式全顎補綴装置の長期予後と術後合併症について. 第40回日本口腔インプラント学会学術大会 2010.9.17-19 札幌コンベンションセンターおよび札幌市産業振興センター、札幌
 23. 宮原宇将、永山友子、小林裕史、黒田真司、春日井昇平. 新規 GBR ナノゲルクロスリンクングメンブレン ラット頭蓋骨欠損モデルにおけるドライタイプとウェットタイプの骨治癒比較評価. 第40回日本口腔インプラント学会学術大会 2010.9.17-19 札幌コンベンションセンターおよび札幌市産業振興センター、札幌
 24. 宗像源博、立川敬子、大林尚人、誉田栄一、春日井昇平. ビスフォスフォネート経口投与が下顎骨に与える影響. 第40回日本口腔インプラント学会学術大会 2010.9.17-19 札幌コンベンションセンターおよび札幌市産業振興センター、札幌
 25. 竹林晃、春日井昇平. 新発想のCT撮影用テンプレートと光学式サージカルガイドを用いたナビゲーションシステムの開発. 第40回日本口腔インプラント学会学術大会 2010.9.17-19 札幌コンベンションセンターおよび札幌市産業振興センター、札幌
 26. 秋野徳雄、立川敬子、丸尾勝一郎、宗像源博、春日井昇平. 口腔内から採取された自家骨の細菌学的汚染度の検討 生理的食塩水による洗浄効果について. 第40回日本口腔インプラント学会学術大会 2010.9.17-19 札幌コンベンションセンターおよび札幌市産業振興センター、札幌
 27. 丸尾勝一郎、近藤尚知、鬼原英道、立川敬子、春日井昇平. シンバスタチン- α -TCP リン酸カルシウム複合体のラット抜歯窩への骨造成効果のX線学的評価. 第40回日本口腔インプラント学会学術大会 2010.9.17-19 札幌コンベンションセンターおよび札幌市産業振興センター、札幌
 28. 渡邊武、塩田真、春日井昇平. 上顎洞外側壁における後上歯槽動脈の分布. 第40回日本口腔インプラント学会学術大会 2010.9.17-19 札幌コンベンションセンターおよび札幌市産業振興センター、札幌
 29. 岡田常司、宗像源博、立川敬子、春日井昇平. β -TCP を用いた上顎洞挙上術の経時的変化の観察 歯科用コーンビームCTによる分析. 第40回日本口腔インプラント学会学術大会

2010. 9. 17-19 札幌コンベンションセンター
および札幌市産業振興センター、札幌
30. 小林賢一、小林弘清、春日井昇平. 合理的な
オーバーデンチャー製作法. 第40回日本口腔
インプラント学会学術大会 2010. 9. 17-19
札幌コンベンションセンターおよび札幌市産
業振興センター、札幌
31. 山口葉子、小長井和裕、塩田真、春日井昇平.
インプラント体の長さとの初期固定に関する模
擬骨を用いた実験的研究. 第40回日本口腔イ
ンプラント学会学術大会 2010. 9. 17-19 札
幌コンベンションセンターおよび札幌市産業
振興センター、札幌
32. Date Y, Ota M.S, Yokoyama Y, Iseki S, Kasugai S.
Genome-wide screening of key molecules for tooth
root development. 10th Tooth Morphogenesis and
Differentiation. 2010.9-1-4. Berlin, Germany
33. 永山友子、中原貴、太田正人、春日井昇平、井関
祥子 FGF シグナルの胎児マウス頭蓋冠骨芽細
胞分化に与える影響 第31回日本炎症・再生
医学会 2010. 8. 5-6 京王プラザホテル 東京
34. Miyahara T, Koizumi H, Nyan M, Pluemsakunthai
W, Shimizu Y, Shiota M, Kasugai S. Novel material
for mouth guard composed of two materials.
General Session (88th) and Exhibition of
International Association for Dental Research
2010.7.14-17. Barcelona, Spain
35. Rodriguez R, Kondo H, Nyan M, Hao J, Miyahara
T, Ohya K, Kasugai S. Application of
epigallocatechin- 3-gallate -tricalcium phosphate
combination for bone regeneration. General Session
(88th) and Exhibition of International Association
for Dental Research 2010.7.14-17. Barcelona,
Spain
36. Hosokawa R, Torii S, Makino M, Sekine J,
Kasugai S. Clinical outcome of immediate-loaded
implants: 12-year multicenter study in Japan.
General Session (88th) and Exhibition of
International Association for Dental Research
2010.7.14-17. Barcelona, Spain
37. Date Y, Ota M, Yokoyama Y, Iseki S, Kasugai S.
Isolation of the genes involved in tooth root
morphogenesis. General Session (88th) and
Exhibition of International Association for Dental
Research 2010.7.14-17. Barcelona, Spain
38. Noritake K, Kuroda S, Nyan M, Atsuzawa Y,
Kasugai S. Feasibility of a modified gelatin
hydrogel membrane for GBR. General Session
(88th) and Exhibition of International Association
for Dental Research 2010.7.14-17. Barcelona,
Spain
39. Kuroda S, Noritake K, Hao J, Nakata H, Kasugai
S. Interference in PPAR γ 2 and transgene for
Osterix may reprogrammed osteogenesis. General
Session (88th) and Exhibition of International
Association for Dental Research 2010.7.14-17.
Barcelona, Spain
40. Rungsiyanont S, Swasdison S, Dhaneuan N,
Kasugai S. Biocompatibility evaluation of
gelatin-hydroxyapatite crosslinked scaffold for
tissue engineering. General Session (88th) and
Exhibition of International Association for Dental
Research 2010.7.14-17. Barcelona, Spain
41. Kondo H, Kihara S, Kobayashi T, Suzuki T,
Kuroda S, Kasugai S. Multiple attachment system
for the implant retained removable denture. General
Session (88th) and Exhibition of International
Association for Dental Research 2010.7.14-17.
Barcelona, Spain
42. Hudieb M, Wakabayashi N, Kasugai S. Stress
transferring mechanism around microthreaded and
smooth dental implants. General Session (88th) and
Exhibition of International Association for Dental
Research 2010.7.14-17. Barcelona, Spain
43. Rojbani H, Nyan M, Kasugai S. Osteoconductivity
Of α , betaTCP and HA with/without simvastatin.
General Session (88th) and Exhibition of
International Association for Dental Research
2010.7.14-17. Barcelona, Spain
44. Zakaria O, Kon K, Kasugai S. Evaluation of a new
biodegradable periosteal distractor. General Session
(88th) and Exhibition of International Association
for Dental Research 2010.7.14-17. Barcelona,
Spain
45. Hao J, Kuroda S, Ohya K, Aoki H, Kasugai S.
Effect of local release of zoledronic acid (ZOL)

- immobilized on a thin sputtered hydroxyapatite (HA) coated implant on bone regeneration. European Orthopaedic Research Society 2010.6.30-7.2 Davos, Switzerland
46. Inoue K, Matin K, Hanada N, Imai S, Shiota M, Kasugai S. Bacterial contamination of oral implant associated autogenous bone graft. ITI World Symposium 2010.4.15-17 Geneva, Switzerland
47. 水野光政、大島正充、小川美帆、山崎大道、中尾一久、山本照子、齋藤正寛、辻 孝、再生歯による移植システムの開発 (I) – 再生歯ユニットの作製と成体顎骨への生着の解析 –、第10回 日本再生医療学会総会、東京・京王プラザホテル、2011年3月2日
48. 大島正充、水野光政、今村 彩、森田梨津子、小川美帆、山崎大道、山本照子、齋藤正寛、辻 孝、再生歯による移植システムの開発 (II) – 再生歯ユニットによる歯槽骨と歯の生理機能の回復 –、第10回 日本再生医療学会総会、東京・京王プラザホテル、2011年3月2日
49. 大島正充、水野光政、今村 彩、小川美帆、山崎大道、中尾一久、山本照子、齋藤正寛、辻 孝、歯の機能的な再生 (I) : 再生歯ユニットの作製と成体顎骨への生着の解析: 第33回日本分子生物学会年会、神戸・神戸ポートアイランド、2010年12月10日
50. 今村彩、大島正充、水野光政、森田梨津子、小川美帆、山崎大道、山本照子、齋藤正寛、辻 孝、歯の機能的な再生 (II) : 再生歯ユニット移植による歯の生理的機能の再生: 第33回日本分子生物学会年会、神戸・神戸ポートアイランド、2010年12月10日
51. 中村友美、石田研太郎、花岡麻伊、弓削洋平、小川美帆、齋藤正寛、辻 孝、器官原基法を応用した器官発生における遺伝子機能解析システムの構築: 第33回日本分子生物学会年会、神戸・神戸ポートアイランド、2010年12月7日
52. 花岡麻伊、石田研太郎、弓削洋平、中村友美、安川真人、齋藤正寛、辻 孝、SMAD6 は歯胚発生過程において歯原性上皮の発生を抑制的に制御する: 第33回日本分子生物学会年会、神戸・神戸ポートアイランド、2010年12月7日
53. 野本洋平、森田梨津子、紀平望帆、小川美帆、齋藤正寛、辻 孝、器官原基の形態形成と細胞動態の解析: 第33回日本分子生物学会年会、神戸・神戸ポートアイランド、2010年12月7日
54. 石田研太郎、室伏真由美、中尾一久、森田梨津子、小川美帆、齋藤正寛、辻 孝、歯胚発生における細胞増殖による歯冠幅制御機構の解析: 第33回日本分子生物学会年会、神戸・神戸ポートアイランド、2010年12月7日
55. 森田梨津子、野本 洋平、小川美帆、大橋一正、水野健作、辻 孝、細胞骨格再編成を介した器官形態の制御メカニズムの解析: 第33回日本分子生物学会年会、神戸・神戸ポートアイランド、2010年12月7日
56. 水野光政、大島正充、今村彩、小川美帆、中尾一久、山崎大道、山本照子、齋藤正寛、辻 孝、機能的な歯の再生 (I) : 機能的な歯の構造体: 再生歯ユニットの作製技術の開発、第8回日本再生歯科医学会学術大会・総会、名古屋・愛知学院大学、2010年10月30日
57. 大島正充、水野光政、今村彩、小川美帆、山崎大道、中尾一久、山本照子、齋藤正寛、辻 孝、機能的な歯の再生 (II) : 再生歯ユニット移植による生体顎骨への生着と歯槽骨再生、第8回日本再生歯科医学会学術大会・総会、名古屋・愛知学院大学、2010年10月30日
58. 山崎大道、大島正充、水野光政、今村彩、小川美帆、山本照子、齋藤正寛、辻 孝、機能的な歯の再生 (III) : 再生歯ユニット移植による歯の生理的機能の再生、第8回日本再生歯科医学会学術大会・総会、名古屋・愛知学院大学、2010年10月30日
59. 園山 亘: 組織再生による口腔機能の再生へ向けて. 第11回 九州再生歯科研究会. 博多、2010年6月20日
60. Ono M, Inkson CA, Kilts TM, Sonoyama W, Kuboki T, Young MF: WISP-1/CCN4 Regulates Osteogenic Differentiation by Controlling BMP-2 Function. 88th International Association for Dental Research. Barcelona, Spain. 2010年7月15日
61. 園山 亘, 窪木拓男: Functional Regeneration of Oral Tissue -Transfer of in vitro Results with Cultured Stem/Progenitor Cells to in vivo-. 日本組織培養学会 第83回大会. 岡山、2010年5月21日

日

62. 新川重彦, 園山 亘, 大野充昭, 窪木拓男: ヒト歯胚関連組織から分離した上皮細胞の分化を制御する因子の検索. 歯の発生・再生に関する研究セミナー. 岡山, 2010年8月24日
63. Sonoyama W, Ono M, Kuboki T: Biological Researches for Regenerative Dentistry in our Department. Kotsanos seminar. Okayama, Japan. 2010.年10月6日

3. その他(報道発表)

1) 国内報道

① 新聞(主要新聞、地方新聞)

読売新聞(福島版) 2010年12月3日(山口朗)

② WEB

歯科会員制ポータルサイト DentWave、2011年2月24日(辻 孝)

③ テレビ・ラジオ報道

該当なし

④ 雑誌

1. 辻 孝, 歯科雑誌「日本歯科評論」4月号、2011年3月23日
2. 辻 孝, 歯科専門誌 Quintessence「クイント494号」、2011年2月24日
3. 辻 孝, 阪急コミュニケーションズ「Pen with new attitude」2010年11月15日
4. 辻 孝, 独立行政法人 日本学術振興会「2010 VOL.2 科研費 NEWS」2010年11月
5. 辻 孝, 朝日新聞社・メディカル朝日 2010年4月1日

2) 国外報道

① WEB

該当なし

② テレビ報道

該当なし

③ 雑誌

該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

1. 辻 孝, 中尾一久, 大島正充(出願人: オーガンテクノロジーズ): 再生歯ユニットの製造方法: 特願 2010-196009、平成 22 年 9 月 1 日
2. 辻 孝, 中尾一久, 大島正充(出願人: オーガンテクノロジーズ): 再生歯ユニットの移植による歯槽骨の回復方法: 特願 2010-196016、平成 22 年 9 月 1 日
3. 辻 孝, 池田悦子, 朝井洋明(出願人: オーガンテクノロジーズ): 歯欠損部の修復方法及び修復材料の製造方法: 特願 2010-525698、平成 22 年 12 月 28 日
4. 窪木拓男, エミリオ サトシ ハラ, 大野充昭, 園山 亘, 滝川正春: 特許の名称「軟骨再生促進剤」特願 2011-037932.
5. 窪木拓男, 大野充昭, 園山 亘, 中島 隆, 笈田育尚: 特許の名称「新規間葉系幹細胞」特願 2011-111873.

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

顎骨造成法の開発

（口腔領域の軟組織および骨組織の再生に関する研究）

研究分担者 春日井 昇平 東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 教授

研究要旨

本研究の目的は、口腔領域の軟組織および骨の有効な再生法を開発することである。コレステロールを共有結合したプルランから成るナノゲル[cholesterol-bearing pullulan nanogels, (CHP)-nanogel]あるいは架橋ゼラチン膜が、骨欠損部の再生を促進することを組織学的に確認した。この2種類の膜は内因性の成長因子を膜内に蓄積し、その後徐々に放出することによって骨の再生を促進する可能性が考えられた。吸収性の alpha-TCP に骨芽細胞の BMP2 発現を促進するシンバスタチンを組み合わせて我々が以前開発した骨補填材の臨床試験を継続しておこない、この骨補填材が骨と置換する骨補填材であり、インプラント治療に有用であることを明らかにした。さらに、シンバスタチンを beta-TCP あるいは HA（ハイドロキシアパタイト）と組み合わせた場合にも骨形成の促進が期待できるが、組み合わせる材料によって吸収性が異なることを確認した。また、抗酸化作用を示す緑茶のカテキン(EGC)と alpha-TCP を組み合わせた骨補填材も、骨形成を促進して骨と置換する材料であることを明らかにし、抗酸化剤を用いた組織再生の可能性が示唆された。近年の組織工学的手法の応用により、骨組織の造成は比較的簡便におこなうことが可能であるが、垂直的に骨を造成することは困難である。骨膜下にメッシュを置いて徐々に挙上することで垂直的な骨造成が可能であることを報告した。この方法を用いることで骨および軟組織の造成が同時に可能となる。

A. 研究目的

歯が欠損した場合の治療法として歯科インプラント（以下インプラント）を用いた治療は、義歯をしっかりと固定でき、残存歯に対して負担をかけること無しに口腔機能を回復できる利点がある。現在インプラント治療は急速に普及しているが、インプラント埋入予定部位に骨と軟組織が不足する場合、インプラント治療は困難となる。インプラント治療は確実な治療法となっているが、天然歯と比較してインプラント周囲粘膜との結合は強固でないため、インプラント周囲の感染が起きやすい。また、インプラントは歯根膜組織を欠いているため、咬合の長期的変化に天然歯のように適用できないこと、また天然歯と比較して感覚閾値が高い（感覚が鈍い）問題がある。インプラント治療に続く次世代の歯の欠損治療法として、再生歯の臨床応用への期待は高い。

本研究の目的は、口腔領域の軟組織および骨の有効な再生法を開発することである。軟組織および骨の再生に関する研究は、現在のインプラント治療にとって必要な研究であり、再生歯の臨床応用にとっても有用な研究であると考えている。

B. 研究方法

本研究における動物実験は東京医科歯科大学動物実験委員会、臨床試験は東京医科歯科大学歯学部倫理委員会の承認を受けておこなわれた。

コレステロールを共有結合したプルランから成るナノゲル[cholesterol-bearing pullulan nanogels, (CHP)-nanogels] あるいはゼラチンを架橋した材料は、成長因子や薬物の DDS に有用な材料であると考えられている。そこでこれらの材料を用いて Guided Bone Regeneration (GBR) 用の膜を作成し、ラット頭部の直径 5mm の骨欠損部の上部に置き、ラ

ットを経時的に屠殺して、骨欠損部を放射線学的、組織学的に検討した。

吸収性の骨補填材である alpha-TCP とコレステロール合成阻害薬であり骨芽細胞の BMP2 発現を上昇させるシンバスタチンを組み合わせた顆粒状の材料を作成した。この骨補填材を、口腔領域に骨欠損があり、同意を得られた被験者に適用して、放射線学的に検討し、その部位にインプラントを埋入した被験者を継続して観察した。

alpha-TCP, beta-TCP, HA (ハイドロキシアパタイト) にシンバスタチンを含有させ、ラット頭部の直径 5mm の骨欠損部に適用し、ラットを経時的に屠殺して、骨欠損部を放射線学的、組織学的に検討した。

C. 研究結果

(CHP)-nanogel およびゼラチン架橋膜は、共に骨欠損部の骨形成を著しく促進した。臨床で使用されているコラーゲン膜と比較して骨形成の促進は著しく、4 週間において骨欠損部は骨に満たされていた。

alpha-TCP とシンバスタチンを組み合わせた顆粒状の材料を適応した臨床試験の全て症例を継続して観察した。全ての症例において、補填材と周囲骨の境界は不明瞭となり、補填材の吸収と骨への置換が示唆された。また、一部の症例において、適用してから 6 ヶ月後に補填材適用部位の CT 値の上昇が見られ、これからも骨補填材の新生骨への置換が推測された。また、骨補填材を適用した上顎洞の組織像においても、補填材の吸収と新生骨への置換が明らかであった。

D. 考察

PGE1 を含む (CHP)-nanogel が、単独で軟組織および骨組織の再生を促進することが明らかとなった。

(CHP)-nanogel は成長因子や薬物の DDS 材料として適しているが、この材料単独で組織再生を促進することは興味深い。皮膚や骨の欠損部の修復過程において様々な内因性のシグナル分子が作用している。そのような内因性のシグナル分子を材料内にトラッ

プし、徐放することで皮膚や骨の再生が促進された可能性が考えられる。

繊維製の HAF は、骨欠損部への適用が極めて簡便な補填材である。この補填材は、吸収性であり、新生骨と置換することが明らかになった。将来的にインプラント埋入を予定する部位へ使用する骨補填として適している。また HAF は *in vivo* での遺伝子導入の材料としても適していた。従来の、コラーゲンをプラスミドベクターのキャリアーとして用いる方法では、BMP2 の発現ベクターを用いて異所性に骨を誘導することは困難であった。HA から成る HAF はプラスミド DNA と親和性が極めて高いため、プラスミド DNA を安定した状態で局所に留めておくことが可能であると考えられる。その結果、少量の BMP2 発現ベクターを使用したにも関わらず異所性に骨を誘導できたと推測できる。

alpha-TCP も吸収性の骨と置換する補填材として、我々が以前より研究をおこなっている材料である。この材料と、骨芽細胞の BMP2 発現を誘導するシンバスタチンを組み合わせることで、骨形成を促進し、骨と置換する骨補填材を開発した。そして、この補填材の有効性と安全性を動物実験と臨床試験において確認した。

再生医療を含めて新規開発された治療法が、多くの臨床医によって応用されるようになるためには、以下の 4 つの条件を満たす必要があると私は考えている。第 1 に「臨床的に有効であること」、第 2 に「安全であること」、第 3 に「簡便であること」、第 4 に「妥当な価格であること」である。細胞を用いる再生医療への期待は大きいですが、細胞を用いる再生医療が歯科領域での一般的な治療法となるためには、解決されなくてはならない問題が多い。細胞を採取し、細胞を培養して増やし、その細胞を再生医療に用いるためには、培養をおこなうための特別な設備と機器、培養操作をおこなう人手、再生医療に使用する細胞の安全性を確認するための検査が必要である。これらのコストを低く抑えることが求められている。

rhBMP2 を用いる骨造成は、臨床効果、安全性、簡便性の3つの条件を満たしているが、価格が高いことが障害となっている。

コレステロール合成阻害薬であるシンバスタチンと、alpha-TCP を組み合わせた我々が開発品は上記の4条件を満たしていると考えられる。しかし、この製品が市販され多くの臨床医に使用されるようになるためには、もう一つ大きなハードルを越えなくてはならない。そのハードルとは、この製品の安全性と有効性を証明するための臨床治験をおこない、国からの承認を得ることである。厚生労働省は我々の開発した製品について、「材料としてではなく薬剤としての治験をおこなうべきである」と決定した。材料として臨床治験をおこなう場合に比較して、薬剤として臨床治験をおこなう場合には莫大な費用と期間が必要とされるので、我々は臨床治験をおこなうことを断念した。

米国においては、rhPDGF と beta-TCP を組み合わせた製品、rhBMP2 とアテロコラーゲンを組み合わせた製品のいずれも材料 (Device) としての治験がおこなわれ、承認を受けている。再生医療に関連した製品が次々に承認され、臨床応用可能となっている米国の状況に比較して、我国の状況は絶望的である。このような状況は国民の健康と幸福を妨げていると同時に、医療産業の発展を阻害していることは明らかである。近年の再生医療の進歩は著しく、効果的で、安全性が高く、簡便で、低価格な新たな骨造成法の登場が期待される。それが臨床応用されるためには、我国の医薬品と医療器材の承認システムを大きく改善する必要がある。

骨の造成は比較的簡単におこなうことが可能であり、既に臨床で様々な手法が応用されている。しかし、骨造成する場合には造成部位を軟組織で覆うことが難しい場合が多い。一方、仮骨延長法は骨と軟組織の両方を造成できる画期的な手法であるが、装置を口腔内に入れることが難しいこと、骨を離断する必要があり、症例によっては適用が難しいことが欠点

である。これらの問題を解決する手法として、骨膜のみを挙上して骨を造成する手法が近年試みられている。我々も新たに装置を開発して実験をおこない、この手法の有効性を確認し興味深い実験結果を得ている。平成22年度は、骨組織と軟組織の両方を同時に造成する手法の開発をおこなっている。この手法によって造成された組織は、再生歯の移植部位としても適していることが予想される。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

論文発表

- 1 Hisham R, Nyan M, Ohya K, Kasugai S. Evaluation of the osteoconductivity of α -tricalcium phosphate, β -tricalcium phosphate, and hydroxyapatite combined with or without simvastatin in rat calvarial defect. *Journal of Biomedical Materials Research: Part B - Applied Biomaterials in press*
- 2 Hao J, Kuroda S, Ohya K, Bartakova S, Aoki H, Kasugai S. Enhanced osteoblast and osteoclast responses to a thin film sputtered hydroxyapatite coating. *J Mater Sci Mater Med. in press*
- 3 Rungsiyanont S, Dhanesuan N, Swasdison S, Kasugai S. Evaluation of biomimetic scaffold of gelatin-hydroxyapatite crosslink as a novel scaffold for tissue engineering: Biocompatibility evaluation with human PDL Fibroblasts, human mesenchymal stromal cells, and primary bone cells. *Journal of Biomaterials Applications in press*
- 4 Murakami I, Murakami Y, Clifford DK, Palacci P, Kasugai S. Panoramic implant notation sytem – A method to denote implant position and prosthodontic modalities. *Journal of Prosthodontic Research in press*
- 5 Hudieb MI, Wakabayashi N, Kasugai S. Magnitude and Direction of Mechanical Stress at the Osseointegrated Interface of the Microthread

- Implant. *Journal of Periodontology in press*
- 6 Fueki K, Igarashi Y, Maeda Y, Baba K, Koyano K, Akagawa Y, Sasaki K, Kuboki T, Kasugai S, Garrett NR. Factors related to prosthetic restoration in patients with shortened dental arches: a multicentre study. *Journal of Oral Rehabilitation in press*
 - 7 Rodriguez R, Kondo H, Nyan M, Hao J, Miyahara T, Ohya K, Kasugai S. Implantation of green tea catechin α -tricalcium phosphate combination enhances bone repair in rat skull defects. *Journal of Biomedical Materials Research: Part B - Applied Biomaterials in press*
 - 8 Hudieb M, Kasugai S. Biomechanical effect of crestal bone osteoplasty before implant placement: a three-dimensional finite element analysis. *International Journal of Oral Maxillofacial Surgery* 40(2):200-6, 2011
 - 9 Kuroda S, Goto N, Suzuki M, Kaneda K, Ohya K, Shimokawa H, Kasugai S. Regeneration of bone and tendon/ligament-like tissue induced by gene transfer of bone morphogenetic protein-12 in a rat bone defect. *Journal of Tissue Engineering Apr* 15;2010:891049, 2010
 - 10 Ozeki M, Kuroda S, Kon K, Kasugai S. Differentiation of bone marrow stromal cells into osteoblasts in a self-assembling peptide hydrogel: in vitro and in vivo studies. *J Biomater Appl* 25(7):663-84, 2011
 - 11 Hudieb M, Wakabayashi N, Suzuki T, Kasugai S. Morphologic classification and stress analysis of the mandibular bone in the premolar region for implant placement. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 25(3):482-90, 2010
 - 12 Nyan M, Miyahara T, Noritake K, Hao J, Rodriguez R, Kuroda S, Kasugai S. Molecular and tissue responses in the healing of rat calvarial defects after local application of simvastatin combined with alpha tricalcium phosphate. *Journal of Biomedical Materials Research Part B; Applied Biomaterials* 93(1):65-73, 2010
 - 13 Maruo K, Sato D, Machida T, Kasugai S. Effects of alpha-tricalcium phosphate containing simvastatin on alveolar ridge augmentation. *Journal of Oral Tissue Engineering* 7(3):143-152, 2010
 - 14 Machida T, Nyan M, Kon K, Maruo K, Sato H, Kasugai S. Effect of hydroxyapatite fiber material on rat incisor socket healing. *Journal of Oral Tissue Engineering* 7(3):153-162, 2010
- 著書
- 1 和泉雄一、春日井昇平、荒川真一. インプラント周囲炎とは、インプラント周囲炎を治療する(和泉雄一、吉野敏郎編)、医学情報社、pp6-11, 2010
- 総説
- 1 春日井昇平. 移植材を用いない上顎洞底挙上術. *日本歯科評論* 71(5) :103-112, 2011
- 学会発表
- 1 山口葉子、小長井和裕、塩田真、春日井昇平. インプラントの初期固定に関する長さストレッチ数の影響. 第30回関東・甲信越支部学術大会 2011.2.12-13 パシフィコ横浜 横浜
 - 2 宗像源博、立川敬子、則武加奈子、塩田真、春日井昇平. BP薬剤が関与したと思われるインプラント周囲炎に伴う顎骨壊死の一例. 第30回関東・甲信越支部学術大会 2011.2.12-13 パシフィコ横浜 横浜
 - 3 春日井昇平. 歯科領域で使用する骨補填材. 第1回バイオインテグレーション学会 2011.01.24 東京医科歯科大学MDタワー大講堂 東京
 - 4 春日井昇平. 骨欠損を伴うインプラント治療の現状：骨造成に必要なものは何か? *Dentistry, Quo Vadis?* 2010.12.04-05 野口記念会館 東京

- 5 春日井昇平. インプラント臨床の世界的潮流. Dentistry, Quo Vadis? 2010.12.04-05 野口記念会館 東京
- 6 作山葵、宗像源博、立川敬子、清水勇氣、春日井昇平. インプラント周囲炎を生じた患者に対する細菌学的検討. 第14回日本顎顔面インプラント学会学術大会 2010.12.04-05 明海大学浦安キャンパス 浦安
- 7 山口葉子、塩田真、春日井昇平. インプラント維持力の経時的変化に関する模擬骨を用いた実験的研究. 第14回日本顎顔面インプラント学会学術大会 2010.12.04-05 明海大学浦安キャンパス 浦安
- 8 原口美穂子、立川敬子、宗像源博、向山仁、春日井昇平、谷口尚. インプラントを応用した下顎顎補綴の長期経過観察一固定性ブリッジ症例と可撤性部分床義歯症例一. 第14回日本顎顔面インプラント学会学術大会 2010.12.04-05 明海大学浦安キャンパス 浦安
- 9 Hao J, Kuroda S, Noritake K, Rodriguez R, Pluemsakunthai W, Chen K, Aoki H, Kasugai S. Effect of local zoledronic acid release from a thin sputtered hydroxyapatite coating on bone implant osteointegration in ovariectomized rats. International Symposium for Apatite and Correlative Biomaterials. 2010.12.10-13, Cairns, Australia
- 10 Bhargava S, Kuroda S, Aoki H, Hao J, Noritake K, Ichinose S, Hanawa T, Ohya K, Kasugai S. Influence of sandblasted surface characteristics on initial cell response. I International Symposium for Apatite and Correlative Biomaterials. 2010.12.10-13, Cairns, Australia
- 11 Rodriguez R, Hao J, Nyan M, Noritake K, Kuroda S, Kasugai S. Molecular and cellular events in bone regeneration with green tea catechin and alpha tricalcium phosphate. International Symposium for Apatite and Correlative Biomaterials. 2010.12.10-13, Cairns, Australia
- 12 Kasugai S. Challenge to treat atrophied posterior maxilla: Are there evidences to support your decision? Bagkok Implant Syposium 2010.11.30-12.3 Pullman Bagkok King Power & Theatre Bagkok Thailand
- 13 Kasugai S. What we really need for bone augmentation? 17th Alexandria Internationl Dental Cogress 2010.11.2-4 Hilton Alexandria Green Plaza, Alexandria, Egypt
- 14 原口美穂子、立川敬子、宗像源博、柳沢治之、向山仁、春日井昇平、谷口尚. インプラントを応用した下顎顎補綴の長期観察 固定性ブリッジ症例と可撤性部分床義歯症例. 日本補綴歯科学会東京支部総会・第14回学術大会 2010.10.16-17 昭和大学 東京
- 15 小奈正弘、若林則幸、Malik Hudieb、春日井昇平、五十嵐順正. マイクロスレッド構造がインプラント周囲骨の応力と歪み分布に及ぼす影響. 日本補綴歯科学会東京支部総会・第14回学術大会 2010.10.16-17 昭和大学 東京
- 16 Kimura J, Shiota M, Kon K, Machida T, Fujii M, Kasugai S. Application of hydroxyapatite fiber for bone augmentation. 19th annual Scientific Meeting of European Association for Osseointegration 2010.10.6-7 Glasgow Convention Center, Glasgow, UK
- 17 Kasugai S, Ueno N, Kondo H, Sato D, Kuroda S. Clinical study of new bone substitute: alpha-TCP containing simvastatin. 19th annual Scientific Meeting of European Association for Osseointegration 2010.10.6-7 Glasgow Convention Center, Glasgow, UK
- 18 Miyahara T, Nyan M, Shimoda A, Hao J, Roderiguez R, Kobayashi H, Kuroda S, Shiota M, Akiyoshi K, Kasugai K. Early bone regeneration by novel nanogel cross linking membrane. 19th annual Scientific Meeting of European Association for

- Osseointegration 2010.10.6-7 Glasgow Convention Center, Glasgow, UK
- 19 北爪孝昌, 宗像源博, 立川敬子, 金井 亨, 清水勇氣, 作山 葵, 春日井昇平. インプラント周囲粘膜厚の臨床的検討. 第 53 回秋季日本歯周病学会学術大会 2010.9.18-19 高松
 - 20 藤井政樹, 塩田真, 木村純一, 今一裕, 春日井昇平. 新規吸収性ハイドロキシアパタイトファイバーによる骨造成効果. 第 40 回日本口腔インプラント学会学術大会 2010.9.17-19 札幌コンベンションセンターおよび札幌市産業振興センター、札幌
 - 21 井上一彦, 塩田真, 松原正典, 加藤良一, 春日井昇平. インプラントを用いた可撤式全顎補綴装置の長期予後と術後合併症について. 第 40 回日本口腔インプラント学会学術大会 2010.9.17-19 札幌コンベンションセンターおよび札幌市産業振興センター、札幌
 - 22 宮原宇将, 永山友子, 小林裕史, 黒田真司, 春日井昇平. 新規 GBR ナノゲルクロスリンクングメンブレン ラット頭蓋骨欠損モデルにおけるドライタイプとウェットタイプの骨治癒比較評価. 第 40 回日本口腔インプラント学会学術大会 2010.9.17-19 札幌コンベンションセンターおよび札幌市産業振興センター、札幌
 - 23 宗像源博, 立川敬子, 大林尚人, 菅田栄一, 春日井昇平. ビスフォスフォネート経口投与が下顎骨に与える影響. 第 40 回日本口腔インプラント学会学術大会 2010.9.17-19 札幌コンベンションセンターおよび札幌市産業振興センター、札幌
 - 24 竹林晃, 春日井昇平. 新発想の CT 撮影用テンプレートと光学式サージカルガイドを用いたナビゲーションシステムの開発. 第 40 回日本口腔インプラント学会学術大会 2010.9.17-19 札幌コンベンションセンターおよび札幌市産業振興センター、札幌
 - 25 秋野徳雄, 立川敬子, 丸尾勝一郎, 宗像源博, 春日井昇平. 口腔内から採取された自家骨の細菌学的汚染度の検討 生理的食塩水による洗浄効果について. 第 40 回日本口腔インプラント学会学術大会 2010.9.17-19 札幌コンベンションセンターおよび札幌市産業振興センター、札幌
 - 26 丸尾勝一郎, 近藤尚知, 鬼原英道, 立川敬子, 春日井昇平. シンバスタチン- α -TCP リン酸カルシウム複合体のラット抜歯窩への骨造成効果の X 線学的評価. 第 40 回日本口腔インプラント学会学術大会 2010.9.17-19 札幌コンベンションセンターおよび札幌市産業振興センター、札幌
 - 27 渡邊武, 塩田真, 春日井昇平. 上顎洞外側壁における後上歯槽動脈の分布. 第 40 回日本口腔インプラント学会学術大会 2010.9.17-19 札幌コンベンションセンターおよび札幌市産業振興センター、札幌
 - 28 岡田常司, 宗像源博, 立川敬子, 春日井昇平. β -TCP を用いた上顎洞挙上術の経時的変化の観察 歯科用コーンビーム CT による分析. 第 40 回日本口腔インプラント学会学術大会 2010.9.17-19 札幌コンベンションセンターおよび札幌市産業振興センター、札幌
 - 29 小林賢一, 小林弘清, 春日井昇平. 合理的なオーバーデンチャー製作法. 第 40 回日本口腔インプラント学会学術大会 2010.9.17-19 札幌コンベンションセンターおよび札幌市産業振興センター、札幌
 - 30 山口葉子, 長尾浩史, 宗像源博, 立川敬子, 塩田真. 下顎後方シングルスタンディングインプラントのアバットメントが破折した一症例. 第 40 回日本口腔インプラント学会学術大会 2010.9.17-19 札幌コンベンションセンターおよび札幌市産業振興センター、札幌
 - 31 山口葉子, 小長井和裕, 塩田真, 春日井昇平. インプラント体の長さとの初期固定に関する模擬骨を用いた実験的研究. 第 40 回日本口腔インプラント学会学術大会 2010.9.17-19 札幌

- 幌コンベンションセンターおよび札幌市産業振興センター、札幌
- 32 Date Y, Ota M.S, Yokoyama Y, Iseki S, Kasugai S. Genome-wide screening of key molecules for tooth root development. 10th Tooth Morphogenesis and Differentiation. 2010.9-1-4. Berlin, Germany
- 33 永山友子, 中原貴, 太田正人, 春日井昇平, 井関祥子 FGF シグナルの胎児マウス頭蓋冠骨芽細胞分化に与える影響 第31回日本炎症・再生医学会 2010. 8. 5-6 京王プラザホテル 東京
- 34 Miyahara T, Koizumi H, Nyan M, Pluemsakunthai W, Shimizu Y, Shiota M, Kasugai S. Novel material for mouth guard composed of two materials. General Session (88th) and Exhibition of International Association for Dental Research 2010.7.14-17. Barcelona, Spain
- 35 Rodriguez R, Kondo H, Nyan M, Hao J, Miyahara T, Ohya K, Kasugai S. Application of epigallocatechin-3-gallate -tricalcium phosphate combination for bone regeneration. General Session (88th) and Exhibition of International Association for Dental Research 2010.7.14-17. Barcelona, Spain
- 36 Hosokawa R, Torii S, Makino M, Sekine J, Kasugai S. Clinical outcome of immediate-loaded implants: 12-year multicenter study in Japan. General Session (88th) and Exhibition of International Association for Dental Research 2010.7.14-17. Barcelona, Spain
- 37 Date Y, Ota M, Yokoyama Y, Iseki S, Kasugai S. Isolation of the genes involved in tooth root morphogenesis. General Session (88th) and Exhibition of International Association for Dental Research 2010.7.14-17. Barcelona, Spain
- 38 Noritake K, Kuroda S, Nyan M, Atsuzawa Y, Kasugai S. Feasibility of a modified gelatin hydrogel membrane for GBR. General Session (88th) and Exhibition of International Association for Dental Research 2010.7.14-17. Barcelona, Spain
- 39 Kuroda S, Noritake K, Hao J, Nakata H, Kasugai S. Interference in PPAR γ 2 and transgene for Osterix may reprogrammed osteogenesis. General Session (88th) and Exhibition of International Association for Dental Research 2010.7.14-17. Barcelona, Spain
- 40 Rungsriyanont S, Swadison S, Dhanesuan N, Kasugai S. Biocompatibility evaluation of gelatin-hydroxyapatite crosslinked scaffold for tissue engineering. General Session (88th) and Exhibition of International Association for Dental Research 2010.7.14-17. Barcelona, Spain
- 41 Kondo H, Kihara S, Kobayashi T, Suzuki T, Kuroda S, Kasugai S. Multiple attachment system for the implant retained removable denture. General Session (88th) and Exhibition of International Association for Dental Research 2010.7.14-17. Barcelona, Spain
- 42 Hudieb M, Wakabayashi N, Kasugai S. Stress transferring mechanism around microthreaded and smooth dental implants. General Session (88th) and Exhibition of International Association for Dental Research 2010.7.14-17. Barcelona, Spain
- 43 Rojbani H, Nyan M, Kasugai S. Osteoconductivity Of alfa, betaTCP and HA with/without simvastatin. General Session (88th) and Exhibition of International Association for Dental Research 2010.7.14-17. Barcelona, Spain
- 44 Zakaria O, Kon K, Kasugai S. Evaluation of a new biodegradable periosteal distractor. General Session (88th) and Exhibition of International Association for Dental Research 2010.7.14-17. Barcelona, Spain
- 45 Hao J, Kuroda S, Ohya K, Aoki H, Kasugai S. Effect of local release of zoledronic acid (ZOL) immobilized on a thin sputtered hydroxyapatite (HA) coated implant on bone regeneration. European Orthopaedic Research Society 2010.6.30-7.2 Davos, Switzerland
- 46 Inoue K, Matin K, Hanada N, Imai S, Shiota M, Kasugai S. Bacterial contamination of oral implant associated autogenous bone graft. ITI World Symposium 2010.4.15-17 Geneva, Switzerland

- 47 春日井昇平. 骨粗鬆症患者へのインプラント治療における注意点. シンポジウム 第8回日本歯科骨粗鬆症研究会 2010.4.4 東京医科歯科大学 東京

実験的再生歯の臨床応用に関する研究

分担研究者 辻 孝 東京理科大学 総合研究機構・教授

研究要旨

歯の再生医療の臨床応用化に必要なエビデンスを創出するために、マウスモデルにおいて再生歯胚から成熟した歯の構造体である再生歯ユニットを作製し、成体マウス顎骨内に移植することにより、歯・歯周組織の包括的再生を可能とする機能的な歯の再生技術を構築した。この臓器置換型再生歯の技術を前臨床研究へ展開するため、器官原基法によるイヌ再生歯胚および再生歯ユニットの作製条件、並びに岡山大学グループと共同で歯牙喪失イヌモデルの開発を進めている。また、ヒト幼若智歯歯胚組織を免疫不全動物に移植することにより、歯組織形成能を有することを明らかとしており、大型動物によるモデル検証ならびにヒト細胞利用による前臨床研究を目指す。

A. 研究目的

本分担研究では、再生歯胚移植による臓器置換再生歯 (*Nature Methods* 4, 227-230, 2007) の作製技術を基盤として、「歯の再生医療」の技術開発を行い、臨床応用に必要なエビデンスを創出することを目的とする。昨年度に報告した再生歯胚移植による機能的な歯の再生 (*PNAS USA*, 106(32), 13475-13480, 2009) に引き続き、本年度は再生した完成歯を移植して機能させる新たな歯の再生基盤技術の確立と共に、イヌを用いた細胞操作、並びに移植モデル開発を進め、前臨床研究へと展開する。さらに遺伝子機能を利用して非歯胚由来細胞から再生歯胚を誘導する遺伝子治療のモデルを構築すると共に、臨床応用可能なヒト再生歯胚の技術開発を前臨床研究にまで発展させることを目指す。

B. 研究方法

1) 器官原基法による臓器置換型再生歯の開発：細胞シーズの探索 (研究計画項目①-1)

前臨床段階を目指した大型動物モデルにおける細胞シーズを探索するために、胎齢 55 日齢および生後 30 日齢のイヌ顎骨から、帽状期ならび

に鐘状期の乳歯・永久歯歯胚を摘出する方法を検討した。

2) 器官原基法による臓器置換型再生歯の開発：移植モデルの開発 (マウス) (研究計画項目①-2)

完成した再生歯を歯の喪失部位に移植して、顎骨に生着機能することを明らかとするために、再生歯胚から歯と歯周組織からなる完成した歯の構造体である再生歯ユニットを作製する方法、ならびに成体マウスにおける動物移植モデルを開発した。人為的に作製した再生歯胚を、3 次元的な空間を確保するデバイス内に包埋してマウス腎皮膜下に移植を行い、移植に適した再生歯ユニットを作製可能であるか評価を行った。さらに、成体マウスの下顎第一臼歯を抜歯して歯肉治癒をさせた後、直径 1.0 mm の移植窩を形成し、再生歯ユニットを移植した。移植後、経時的な再生歯の生着をマイクロ CT 撮影および組織学的にて評価した。

また腎皮膜下で発生、ならびに顎骨に生着した再生歯ユニットが、咬合に耐えうる機能的な歯の硬さを有するかを明らかとするため、常法に従い、再生歯のエナメル質と象牙質におけるヌーブ硬

度測定を行った。

次に、顎骨に生着した再生歯ユニットが歯根膜を介した歯槽骨のリモデリング能を有するかを解析するために、直径 0.010 インチの矯正用ワイヤーを用いて、顎骨に生着した再生歯に 10～15 g の実験的矯正力を負荷し、6 日後における骨吸収、骨形成マーカーの組織学的評価を行った。

再生歯が、侵害刺激を中枢へ伝達しうる神経機能を有するかを解析するために、再生歯の歯髄・歯根膜における末梢神経線維を免疫染色にて検出し、さらに矯正による歯根膜の圧迫ならびに露髄刺激を与え、延髄の三叉神経脊髄路核において、中枢における痛みの指標である c-Fos タンパク質を発現するかを解析した。

また、歯槽骨を有して発生する再生歯ユニットを広範性の骨欠損部位に移植することにより、歯槽骨の回復を伴う再生歯の生着が可能であるかを解析するために、マウス下顎骨に広範性骨欠損モデル（近遠心径 1.5mm、頬舌径 1.2mm、高さ 0.6mm）を作製し、その部位に再生歯ユニットを移植して、経時的な歯槽骨の回復と再生歯の生着をマイクロ CT 撮影および組織学的にて評価した。

3) 器官原基法による臓器置換型再生歯の開発：移植モデルの開発（イヌ）（研究計画項目①-2）

岡山大学と共同で、イヌ自家および他家歯胚を用いた移植モデルの開発を実施中であり、本分担研究者はイヌ再生歯胚の作製と発生を進めている。胎齢 55 日、ならびに生後 30 日齢のビーグル犬顎骨から、帽状期および鐘状期歯胚と考えられる永久歯歯胚を摘出し、再生歯胚の作製と発生を解析した。

4) 器官原基法による臓器置換型再生歯の開発：遺伝子解析（研究計画項目①-3）

非歯胚由来細胞を歯胚形成細胞に誘導しうる遺伝子の探索を目的として、天然歯胚の誘導に関わる遺伝子の網羅的な解析を行った。天然歯胚の誘導と形成が認められる胎齢 11.5 日、12.5 日、14.5

日、16.5 日、18.5 日のマウス胎児から摘出した下顎臼歯歯胚の total RNA を、定法により抽出した。Agilent 4 x 44K Whole Mouse Genome を用いてマイクロアレイ解析を行い、時間経過に伴う遺伝子発現の変動パターンを Gene Spring software を用いて解析し、歯胚の誘導が起こる胎齢 11.5～14.5 日の天然歯胚において高発現する遺伝子を選別した。これらの遺伝子の誘導期歯胚における遺伝子発現を明らかにするため、定法により特異的な RNA プローブを合成し、*in situ hybridization* 法を用いて胎齢 12.5～14.5 日の天然歯胚における遺伝子発現のデータベース化を行った。

5) 歯の数、大きさ、形態の制御機構の解明（研究計画項目③-2）

器官原基法を用い再生歯の数、大きさをコントロールする技術開発として、歯胚再構成における細胞の接触面積を調整することにより、形成される再生歯の歯冠幅の制御とその分子機構の解明をマイクロ CT および *in situ hybridization* にて解析を行った。

6) 実験的再生歯の機能評価（研究計画項目⑤）

実験的再生歯の形態評価を行うために、マイクロ CT を用いて、イヌ顎骨内およびマウス腎皮膜下における歯胚発生を評価する方法を構築した。さらに実験的再生歯の機能評価として、歯の硬度、矯正実験による歯根膜機能の評価、神経機能解析方法の検討を行った。

7) ヒト由来細胞を利用した再生歯開発への基盤研究（研究計画項目⑥-1）

9～12 歳児の第 3 大臼歯幼若歯胚から歯乳頭組織ならびに歯小囊組織を採取し、免疫不全マウス腎皮膜下に移植することで、歯関連組織形成能について組織学的評価を行った。

（倫理面への配慮）

1. ヒト材料研究

研究方法の項目⑥における 9～12 歳児の第 3

大白歯幼若歯胚を得るにあたり、岡山大学倫理委員会（承認番号；418号）、ならびに東京理科大学ヒト材料研究及び遺伝子解析研究に係る倫理委員会（承認番号；07012号）の承認のもと、以下の点を遵守した。

（1）提供者を選ぶ際の方針

岡山大学医学部・歯学部附属病院口腔外科（病態系）、歯周科、および矯正歯科、岡山市なんば歯科医院を受診した患者（8～50歳）で、本研究計画の意義・目的や、偶発症・不利益について十分に理解を得た上で、ボランティアとして参加いただける患者を対象とした。具体的には、智歯周囲炎、う蝕、歯周病の診断を受け、抜歯適応となった歯を持つ患者、ならびに歯科矯正治療上の便宜抜歯を行うこととなった患者を対象とした。

（2）インフォームド・コンセントの手続及び方法

試料採取を行う施設（岡山大学、なんば歯科医院）において「提供者に対する説明文書」を試料提供者に手渡し、これに基づき同意の任意性と撤回の自由、研究計画、利益と不利益、個人情報保護、研究終了後の試料の取扱い等について、分かりやすく説明する。試料提供者が研究内容等を十分に理解した上で、研究に協力する場合は「同意書」に署名を求めた。

（3）個人情報の保護の方法

匿名化の方法については、下記の方法にて施行した。まず試料を採取する施設において、患者の年齢と性別のみを記録し、新たなID番号を付与した。試料から得た細胞の保存に際しては、ID番号と年齢、性別、レントゲン写真の対応表を作成し、この対応表からは提供者個人が特定できないよう配慮を行った。東京理科大学では、岡山大学において付与された患者年齢と性別、ID番号の情報と、ID番号の付与された試料を受領し、実験に使用した。必要に応じて、ID番号と研究より得られたデータを保管、あるいは岡山大学へ提供した。

2. 動物実験研究

また、本研究課題におけるすべての動物実験は、東京理科大学動物実験委員会の承認を受けた上で、その規則にしたがって実験を実施した（動物実験承認番号；N10040号）。マウスは日本エスエルシー株式会社（静岡）より購入し、米国国立衛生研究所の定める動物実験のガイドラインにしたがって飼育した。実験による動物への負担軽減のため、施術は5 mg/ml ペントバルビタールを腹腔内注射による全身麻酔下で行った。口腔内施術を行ったマウスは粉末飼料（CE-2、日本クレア、東京）ならびに調製粉乳（ステップ、明治乳業（株）、東京）にて飼育した。

C. 研究結果

1) 器官原基法による臓器置換型再生歯の開発：細胞シーズの探索（研究計画項目①-1）

イヌ再生歯胚作製のための細胞シーズを探索し、胎齢55日の帽状期および鐘状期のイヌ乳歯、並びに永久歯歯胚を摘出する手技を確立した。さらに、それら歯胚上皮組織・間葉組織を用いた歯胚再構成によって歯胚発生が認められたことから、イヌ歯胚においても歯胚誘導を再現することが可能であることを明らかとした。作製したイヌ再生歯胚の発生には長期間の培養が必要であるため、免疫不全マウスの腎皮膜下に移植して生体内で生育させた。その結果、移植後1ヵ月において歯冠硬組織形成を伴う歯胚発生が確認され、移植後2ヵ月では形成された歯冠硬組織量の増加を認め、歯胚発生が進行していることが判明した。

2) 器官原基法による臓器置換型再生歯の開発：移植モデルの開発（マウス）（研究計画項目①-2）

人為的に作製した再生歯胚から、完成した歯の構造体である再生歯ユニットを作製するために、器官原基法によって再生歯胚を鐘状期まで発生させたのち、腎皮膜下に移植を行った。腎皮膜下移植において皮膜の圧力の影響を回避する目的で、空間確保が可能なデバイス内に歯胚を位置して移植を行った。その結果、成熟した歯・歯根膜・

歯槽骨が一体となった歯の構造体である再生歯ユニットを作製可能であり、歯冠の厚み、ならびに歯の長さが規定された移植に適した形態を有していた。腎皮膜下で形成される再生歯ユニットは移植期間に伴って歯冠・歯根部、および歯槽骨の成熟を認め、エナメル質、象牙質、歯髄、歯根膜、歯槽骨といった歯を構成する組織構造も天然歯と同等であった。

歯槽骨を有して発生する再生歯ユニットが、骨性結合を介して顎骨内に生着可能であることを明らかとするため、マウス下顎骨における歯牙喪失モデルに再生歯ユニットを移植・固定して歯肉を縫合した。移植 40 日目には再生歯ユニット由来の歯槽骨の吸収とともに再生歯歯根周囲の歯槽骨の形成・緻密化が認められた。同時期における CT 像および組織像の解析から、再生歯と下顎第二臼歯との槽間中隔歯槽骨が一塊の骨組織として認められ、再生歯ユニットが骨結合を介してレシピエント歯槽骨に生着していることが示された（生着率 79.5%）。また、レシピエント顎骨に生着した再生歯ユニットは、天然歯列内に正常に位置しており、対合歯との咬合を認めた。一方、歯の咬合機能には歯の硬組織の硬度が重要であるため、腎臓皮膜下で発生した再生歯ユニット、および顎骨に生着した再生歯のヌープ硬度を測定した。腎臓皮膜下で発生した再生歯のエナメル質の硬度は天然歯と比較して低いものの、顎骨移植 40 日後の再生歯のエナメル質の硬度は有意に上昇していた。また象牙質の硬度は、いずれも 11 週齢の成体マウス天然歯の硬さと同等であった。これらのことから、再生歯ユニットは咀嚼可能な機能的な歯の硬度を有することが明らかになった。

顎骨に生着した再生歯が、天然歯と同等の生理的機能を有するかを明らかとするために、歯根膜機能および神経機能について解析を行った。歯根膜を介する歯の移動能を実験的矯正により解析すると、矯正開始後 6 日目には歯周囲の歯根膜の形態が変化すると共に、牽引側では骨形成を示す

Osteocalcin の mRNA の発現が認められ、逆に圧迫側では骨吸収を示す TRAP 陽性の破骨細胞が認められた。このことから、歯根膜を介した歯槽骨のリモデリングにより、再生歯が天然歯と同等の歯根膜機能を有することが判明した。また顎骨に生着した再生歯の歯髄や歯根膜には、交感神経や知覚神経といった複数種類の神経線維が侵入しており、天然歯と同様に外部侵害刺激を中枢神経へ伝達できる可能性が示された。さらに、再生歯に矯正力および露髄による侵害刺激を与えると、天然歯を刺激したものと同様に、三叉神経脊髄路核の一部の神経線維で c-Fos タンパク質の産生が認められることから、再生歯の神経線維は外部侵害刺激を中枢に伝達していることが判明した。

歯槽骨を有した再生歯ユニットを歯槽骨が吸収した歯の喪失部位に移植することにより、歯槽骨の回復を伴う再生歯の生着が可能であることを解析するために、広範性骨欠損モデルに再生歯ユニットを移植したところ、天然歯の歯槽骨レベルには至らないものの、移植 45 日目には頰側歯槽骨の垂直的な回復が認められた。このことから、深刻な骨欠損を伴う歯の喪失部位に対して再生歯ユニットを移植することにより、歯槽骨の回復を伴う生着が可能であることが示された。

これらの結果より、再生歯胚から完成した歯の構造体である再生歯ユニットを作製可能であり、その再生歯ユニットを移植することにより、歯と歯周組織を包括的に再生可能な機能的な歯の再生技術になりうることを明らかとした (Oshima M *et al.*, *PLoS ONE*, *under submission*)。

3) 器官原基法による臓器置換型再生歯の開発：移植モデルの開発 (イヌ) (研究計画項目①-2)

辻、窪木、園山の共同で、イヌ自家および他家歯胚を用いた移植モデルを構築中であり、胎仔期ならびに若齢期イヌ顎骨から歯胚を摘出する手技を確立すると共にその歯胚を用いたイヌ移植モデルを検討中である。

4) 器官原基法による臓器置換型再生歯の開発： 遺伝子解析 (研究計画項目①-3)

歯胚形成誘導遺伝子の同定のために、胎齢11.5～14.5日におけるtotal RNAを用いてDNAマイクロアレイ解析を行い、歯胚形成誘導期に高発現する76遺伝子をスクリーニングした。これらの76遺伝子の遺伝子発現領域を同定するため、各歯胚発生過程をin situ hybridizationにて発現パターンを解析したところ、候補遺伝子のうち20遺伝子が帽状期歯胚においてシグナルセンターの役割を果たすエナメルノット、ならびに象牙質、歯髄、歯周組織の元基である歯原性間葉に対して特異的に発現する遺伝子群であることが判明した。エナメルノットは歯胚の形態形成、分化に必要な分子を産生する領域であり、また歯原性間葉は将来歯を構成する象牙質、歯髄、歯周組織の前駆細胞を提供する。今回同定された遺伝子は、このような場所で特異的に発現することから、歯胚発生に関与する可能性が強く示唆された。

次に、候補遺伝子の歯胚発生過程における機能を解析するために、遺伝子導入型歯胚作製技術の確立を行った。歯胚細胞へ遺伝子導入可能なアデノウイルス発現系を用いて歯胚に遺伝子導入し、器官培養により発生に及ぼす影響をモニターすることで、候補遺伝子の機能を解析する実験システムの構築を目指した。Bmpシグナルを抑制するSMAD6とNogginアデノウイルスを用いて検討した結果、歯胚発生を抑制したことから、本実験システムは歯胚発生を制御する候補遺伝子の同定と機能の解明に適した実験系であることが示された。

5) 歯の数、大きさ、形態の制御機構の解明 (研究計画項目③-2)

再生歯の大きさを制御するために、器官原基法における歯胚上皮細胞と間葉細胞の接触面積を調整することにより、細胞の接着面積に依存して、形成される歯冠幅が増大することが示された。歯

の形態形成は、歯胚発生過程の上皮・間葉組織の細胞増殖や運動の統合的な調節により制御されていることから、歯胚の遺伝子発現と細胞増殖部位の解析を実施した。Sonic hedgehog (*Shh*)は帽状期のEnamel knotで局所的に発現し、その後、内エナメル上皮において歯冠の幅に相当する領域で発現することが判明した。そこで、歯胚の歯冠幅と*Shh*の発現部位の関係を解析するために、歯冠幅の異なる再生歯胚を器官原基法によって作製し、*Shh*の発現部位を解析したところ、*Shh*発現領域の幅が再生歯胚の歯冠幅と相関した。さらに、*Shh*発現領域と歯冠幅の制御機構との関連を明らかにするため、*Shh*の発現部位とKi67の発現からみた細胞増殖領域を解析したところ、Enamel knotが形成される帽状期と鐘状期のいずれにおいても、内エナメル上皮細胞が*Shh*を発現している領域において細胞増殖の停止が認められた。その一方で、*Shh*の発現を認めない上皮形態の先端部では、内エナメル上皮細胞の細胞増殖が認められたことから、歯胚発生における歯冠幅の決定には内エナメル上皮における細胞増殖の部位特異的の制御が示唆された (Ishida K *et al.*, *Biochem Biophys Res Commun* 405: 455-461, 2011)。

6) 実験的再生歯の機能評価 (研究計画項目⑤)

再生歯の形態評価として、マイクロCTを用いることにより、イヌ顎骨内およびマウス腎皮膜下における歯胚発生を3次元的に解析・評価する方法を構築することが可能であった。さらには共焦点レーザー顕微鏡 (LSM 780, Carl Zeiss MicroImaging, Germany)を用いることにより、歯胚発生における3次元的な細胞動態、ならびに形態形成を経時的に解析することを可能とした。

また再生歯の機能評価として、歯の硬度 (ヌーブ硬度) や矯正実験による歯根膜機能の評価、さらには神経機能の解析方法についてはマウスモデルにおいて確立されており、イヌモデルにおける解析を検討中である。

7) ヒト由来細胞を利用した再生歯開発への基盤研究 (研究計画項目⑥-1)

9~12歳児の第3大臼歯歯胚から採取される歯乳頭組織、および歯小囊組織を免疫不全マウスへ移植することにより、ヒト歯胚に由来するエナメル質と象牙質やセメント質、歯根膜といった歯の組織形成を認めたことから、歯組織形成能を有することを明らかとした。

D. 考察

マウスモデルにおいて、再生歯ユニット移植による機能的な歯・歯周組織の包括的再生の可能性が示されたことから、昨年度に報告した再生歯胚移植と共に機能的咬合系を回復させる臓器置換型再生歯の実現可能性エビデンスが小型動物の研究により得られたものと考えられる。これらのエビデンスを基盤として、大型動物であるイヌによる前臨床研究を進めるため、イヌ再生歯胚の発生頻度を向上させる条件検討や、再生歯胚・再生歯ユニットの顎骨移植モデルの確立を行う必要があると考えられる。さらには、ヒト幼若智歯歯胚組織で確認された歯関連組織再生能を細胞レベルにて評価を行い、歯の再生医療の実現化にむけた前臨床研究を推進していく予定である。

E. 結論

小型動物モデルにおいて、完成歯の構造体である再生歯ユニットを移植することにより、歯の喪失に対する歯・歯周組織の包括的再生が可能であり、さらには機能的咬合系を生理学的に回復させたことから、臓器置換型再生歯の実現可能性のエビデンスが得られると共に、歯の喪失に対する再生医療への応用が期待される。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Kentaro Ishida, Mayumi Murofushi, Kazuhisa Nakao, Ritsuko Morita, Miho Ogawa and **Takashi Tsuji**. The regulation of tooth morphogenesis is associated with epithelial cell proliferation and the expression of Sonic hedgehog through epithelial-mesenchymal interactions. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 405(3), 455-461, 2011.

大島正充、**辻 孝**：＜総説＞次世代の歯科治療としての歯の再生、*治療 2010 年 7 月号 (南山堂)*、**92(7)**、1873-1881、2010.

中尾一久、**辻 孝**：＜総説＞次世代再生医療の実現に向けた研究の進展、*科学フォーラム 2010 年 7 月号 (東京理科大学)*、**27(7)**、38-42、2010.

辻 孝：＜総説＞歯の再生に関する研究の動向と実用化について、*日本歯科評論 (株)ヒョーロン・パブリッシャーズ*、**70(9)**、13-15、2010.

辻 孝：＜総説＞歯科再生医療に向けた研究の現状とその実現可能性、*神奈川歯科大学学会雑誌 (神奈川歯科大学)*、**45(2)**、69-78、2010.

小川美帆、大島正充、**辻 孝**：＜総説＞次世代再生医療としての歯の再生、*顕微鏡(社団法人日本顕微鏡学会)*、**46(1)**、50-54、2011.

2. 学会発表

1) 招待講演 (国際)

Masahiro Saito and **Takashi Tsuji**, Fully functional bioengineered tooth replacement as a future tooth regenerative therapy, First Annual Weintraub Center Retreat, Los Angeles, USA, April 17, 2010.

2) 招待講演 (国内)

辻 孝, 未来の歯科治療としての歯科再生医療の実現を目指して、筑紫歯科医師会講演、福岡・筑紫歯科医師会館、2011年3月20日

辻 孝, 未来の歯科治療としての歯科再生医療、