

cross-linking membrane for guided boneregeneration (GBR). J Tissue Engineer Regenerat Med (in press)

144. Zakaria O, Kon K, Kasugai S. Evaluation of a biodegradable novel periosteal distractor. *J Biomed Mater ResPart B - Applied Biomaterials* (in press)
145. 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. *J Biomater Appl* (in press)

## 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)、pp6-11 医学情報社、2010
2. 春日井昇平: インプラント治療の現状と最近の進歩: 再生医療との関わり. Minimally Intervention 時代の歯科知識 (吉山昌宏、伊藤博夫、十河基文編)、永末書店、pp10-26、2009
3. 春日井昇平: 細胞増殖のためのバイオマテリアルの利用 再生部位確保膜 歯周組織(GTR). 患者まで届いている再生誘導治療 (田畑泰彦編)、株式会社メディカルドウ、pp81-84、2009
4. 春日井昇平: インプラント手術をマスターするための関連機材マニュアル 診断機材からピエゾサージェリーまで (春日井昇平、古賀剛人、嶋田淳 編)、クインテッセンス出版、2009
5. 春日井昇平、藤森達也. ミューワンHA インプラントシステム. インプラント YEAR BOOK 2001 g(クインテッセンス編)、クインテッセンス出版株式会社、pp269-276、2011

## 2. 学会発表

### 1) 招待講演

1. 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

2. 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
3. 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
4. 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
5. Kasugai S. What we really need for bone augmentation? 17<sup>th</sup> Alexandria International Dental Congress 2010.11.2-4 Hilton Alexandria Green Plaza, Alexandria, Egypt
6. 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

### 2) 一般演題

1. 宗像 源博, 立川 敬子, 能村 嘉一, 柏森 高, 春日井 昇平. ポリ乳酸メッシュプレートを用いた移植材を併用しない上顎洞底挙上術の検討. 第30回日本口腔インプラント学会関東甲信越支部学術大会 2012. 2. 11-12 京王プラザホテル新宿 東京.
2. 作山 葵, 淵上 慧, 宗像 源博, 立川 敬子, 春日井 昇平. インプラント周囲細菌叢の比較検討. 第30回日本口腔インプラント学会関東甲信越支部学術大会 2012. 2. 11-12 京王プラザホテル新宿 東京.
- 3) 金井 亨, 宗像 源博, 岡田 常次, 佐藤 大輔, 春日井 昇平. ポケットプロービング圧力測定による新しいインプラント周囲組織検査

- 法. 第 30 回日本口腔インプラント学会関東甲信越支部学術大会 2012. 2. 11-12 京王プラザホテル新宿 東京.
- 4) 山口 葉子, 塩田 真, 春日井昇平. インプラント体埋入時のトルク-時間曲線の解析. 第 30 回日本口腔インプラント学会関東甲信越支部学術大会 2012. 2. 11-12 京王プラザホテル新宿 東京.
  - 5) 秋野 徳雄, 立川 敬子, 高宅 花織, 春日井 昇平. 多孔性ハイドロキシアパタイト/ポリー DL-乳酸複合体材料を用いた垂直的骨造成. 第 30 回日本口腔インプラント学会関東甲信越支部学術大会 2012. 2. 11-12 京王プラザホテル新宿 東京.
  - 6) 金 ユキョン, 佐藤 大輔, 宗像 源博, 春日井 昇平. 全顎的なインプラント治療開始後 II 型糖尿病に改善が見られた一例. 第 30 回日本口腔インプラント学会関東甲信越支部学術大会 2012. 2. 11-12 京王プラザホテル新宿 東京.
  - 7) 永山 友子, 立川 敬子, 春日井 昇平. 線維芽細胞増殖因子 (FGF) 18 の胎児マウス頭蓋冠形成に与える影響. 第 30 回日本口腔インプラント学会関東甲信越支部学術大会 2012. 2. 11-12 京王プラザホテル新宿 東京.
  - 8) 武山 秀子, 塩田 真, 今北 千春, 黒田 真司, 春日井 昇平. 臼歯中間欠損に対するインプラント補綴による咬合力変化に関する研究. 第 30 回日本口腔インプラント学会関東甲信越支部学術大会 2012. 2. 11-12 京王プラザホテル新宿 東京.
  - 9) 古市 祥子, 立川 敬子, 小林 裕史, 眞野 嘉洋, 春日井 昇平. 新規口腔洗浄用オゾン水の有効性評価. 第 30 回日本口腔インプラント学会 関東甲信越支部学術大会 2012. 2. 11-12 京王プラザホテル新宿 東京.
  - 10) 佐藤 成実, 宗像 源博, 立川 敬子, 岡田 常次, 春日井 昇平. 上顎洞底挙上術に用いた  $\beta$ -TCP の経時的体積変化の X 線 CT 画像による検討. 第 30 回日本口腔インプラント学会 関東甲信越支部学術大会 京王プラザホテル新宿 2012. 2. 11-12 東京
  - 11) 春日井昇平. 骨造成への新しいアプローチ: 骨再生のための鍵を考える. 玉川歯科医師会 2012. 2. 4
  - 12) 春日井昇平. Keys for bone augmentation. 新潟大学 医歯学総合研究科大学院セミナー 2012. 2. 3
  - 13) Hao J, Kuroda S, Kasugai S. Bacterial adhesion behavior and bone formation effect of Zoledronic Acid (ZOL) immobilized hydroxyapatite implants. 第 2 回バイオインテグレーション学会 2012.1.29 東京医科歯科大学 東京
  - 14) Madi M, Zakarina O, Noritake K, Fujii M, Kasugai S. Ligature-induced periimplantitis surrounding thin sputtered HA-coated implants. An experimental study in dogs. Clinical and radiographic evaluations. 第 2 回バイオインテグレーション学会 2012.1.29 東京医科歯科大学 東京
  - 15) 山本麻衣子, 塩田真, 今一裕, 宗像源博, 淵上慧, 春日井昇平. アパタイトを用いたサイナスリフトクレストアルアプローチ法での挙上部の形態的安定性について. 第 2 回バイオインテグレーション学会 2012.1.29 東京医科歯科大学 東京
  - 16) 湯川 健, 立川敬子, 宗像源博, 塩田 真, 春日井昇平 過去 5 年間に来院した他院でのインプラント治療の既往を持つ患者の検討. 第 15 回日本顎顔面インプラント学会学術大会 2011. 12. 3-4 幕張メッセ 千葉
  - 17) 石渡正浩, 宗像源博, 立川敬子, 作山葵, 春日井昇平. インプラント上部構造の審美性の回復に骨セメントを臨床応用した 2 症例. 第 15 回日本顎顔面インプラント学会学術大会 2011. 12. 3-4 幕張メッセ 千葉

- 18) 原口美穂子, 宗像 源博, 立川 敬子, 向山 仁, 清水勇気, 春日井 昇平, 谷口 尚. 交通外傷を伴う左側唇顎裂患者に対しインプラントを適応した補綴治療の一例. 第 15 回日本顎顔面インプラント学会学術大会 2011. 12. 3-4 幕張メッセ 千葉
- 19) Kasugai S. Keys for bone augmentation: Respecting endogenous key players and space for regeneration. Korean Association of Dental Sciences 2011.11.24 Yonsei University, Seoul, Korea
- 20) 春日井昇平. ミューワン HA インプラント: 簡便で良好な予後. Implant CAD/CAM Meeting 2011. 11. 12 横浜パシフィコ、横浜
- 21) Miyahara T. Pluemsakunthai W. Nyan M. Shimoda A. Kobayashi H. Shimizu Y. Fujimori T. Shiota M. Akiyoshi K. Kasugai S Novel exploitation of polysaccharide nanogel cross-linking membrane for GBR. European Association for Osseointegration 20th Annual Scientific Meeting 2011.10.12-15 Skalkotas Hall Athens Greece
- 22) Yamamoto M. Shiota M. Kon K. Munakata M. Fuchigami K. Kasugai S. Dimensional assessment of crestal approached sinus augmentation with composite graft. European Association for Osseointegration 20th Annual Scientific Meeting 2011.10.12-15 Skalkotas Hall Athens Greece
- 23) Kon K. Takahashi E. Ozeki M. Shimogisi M. Shiota M. Kasugai S. Oral bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw with dental implant; A single case report. European Association for Osseointegration 20th Annual Scientific Meeting 2011.10.12-15 Skalkotas Hall Athens Greece
- 24) Pluemsakunthai W. Kuroda S. Shimokawa H. Noritake K. Hao J. Miyahara T. Lin Z. Kasugai S. Platelet-rich fibrin evaluation for osteogenesis. European Association for Osseointegration 20th Annual Scientific Meeting 2011.10.12-15 Skalkotas Hall Athens Greece
- 25) Nakata H. Kuroda S. Hao J. Yamamoto M. Kasugai S. Modification of culture into osteogenic or keratogenic differentiation from subcutaneous adipose-derived stem cells in vitro. European Association for Osseointegration 20th Annual Scientific Meeting 2011.10.12-15 Skalkotas Hall Athens Greece
- 26) 古市祥子, 眞野喜洋, 立川敬子, 春日井昇平. 新規口腔内洗浄用オゾンナノバブル水(OZNB)-歯科インプラント分野における有効性比較評価. 第 60 回日本口腔衛生学会・総会 2011. 10. 08-10 日本大学松戸歯学部 千葉
- 27) 淵上慧, 宗像源博, 立川敬子, 作山葵, 春日井昇平. インプラント周囲骨吸収に対する臨床的検討. 日本口腔インプラント学会第 41 回学術大会 2011. 9. 16-18 名古屋国際会議場 名古屋
- 28) 湯川 健, 立川 敬子, 中田秀美, 宗像 源博, 春日井 昇平. 当科に来院したインプラント治療経験を持つ患者の検討. 日本口腔インプラント学会第 41 回学術大会 2011. 9. 16-18 名古屋国際会議場 名古屋
- 29) 楠本雄生, 立川敬子, 宗像源博, 近藤尚知, 春日井昇平顎骨再建症例におけるインプラント喪失原因に関する臨床的検討. 日本口腔インプラント学会第 41 回学術大会 2011. 9. 16-18 名古屋国際会議場 名古屋
- 30) 井上一彦, 塩田真, 寺山雄三, 関孝史, 宮内陸行, 春日井昇平. インプラントを用いたテレスコープ型可撤式全顎補綴装置の補綴設計と作製方法について. 日本口腔インプラント学会第 41 回学術大会 2011. 9. 16-18 名古屋国際会議場 名古屋
- 31) 渡邊 武, 塩田 真, 山本麻衣子, 高 尚, 春日井昇平 後上歯槽動脈の欠損形態別分

- 布の検証. 日本口腔インプラント学会第41回学術大会 2011.9.16-18 名古屋国際会議場 名古屋
- 32) 則武 加奈子 黒田 真司 春日井 昇平  
ラット頭蓋骨欠損部における、rhbFGF含有新規生体親和性ゼラチンGBR膜が骨新生に与える効果 第9回日本再生歯科医学会 学術大会・総会 2011.9.10 大阪国際会議場 大阪
- 33) 春日井昇平. 歯科インプラント治療と再生医療の関わり. 日本先端歯科研究所講演会 2011.9.10 日本先端歯科研究所、東京
- 34) 春日井昇平. インプラントにおける再生医療について. 歯植義歯研究所講演会 2011.8.28 歯植義歯研究所、仙台
- 35) Kasugai S. Keys for bone augmentation. Tri-University Consortium on Oral Science and Education 2011.8.4-5 Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand
- 36) Pluemsakunthai W, Kuroda S, Shimokawa H, Kasugai S. New analysis of platelet rich fibrin resorption and platelet derived growth factor extraction. Tri-University Consortium on Oral Science and Education 2011.8.4-5 Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand
- 37) 春日井昇平. 成功するインプラント治療: 診査・診断・治療計画の重要性. 東京都歯科医師会生涯研修 2011.7.31 東京医科歯科大学 東京
- 38) Kasugai S. Key for bone augmentation: Making regenerative space and encouraging endogenous key players. International Society of Blood-derived Biomaterials (ISBB) Taipei Workshop 2011.7.7-8 Yang-Ming University, Taipei, Taiwan
- 39) Pluemsakunthai W, Kuroda S, Shimokawa H, Kasugai S. New analysis of platelet-rich fibrin resorption and platelet derived growth factor extraction. Tri-University Consortium, 2011.6.3-6 Bangkok, Thailand
- 40) 則武加奈子、黒田真司、厚澤雄二、春日井昇平. rhbFGF含有新規生体親和性ゼラチンGBR膜の頭蓋骨欠損部における骨新生への効果. 第32回日本炎症・再生医学会 2011.6.2-3 国立京都国際会館 京都
- 41) Yamaguchi Y, Shiota M, Ahn K, Nagao H, Kasugai S. Analysis of abutment fracture on the single standing implant. International Dental Materials Congress 2011 2011.5.27-29 Eun-Myung Auditorium, Yonsei Univ. Seoul, Korea
- 42) 宗像源博、作山葵、立川敬子、竹内康雄、石渡正浩、和泉雄一、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54回日本歯周病学会春季学術大会 2011.5.27-28 福岡
- 43) Kasugai S. Bone augmentation in dental implant treatment: What is really required for bone augmentation? Korean Academy of Periodontology 2011.5.21 Kyongpook National University, Daegu, Korea
- 44) 乙丸貴史、隅田由香、小坂 萌、宗像源博、立川敬子、春日井昇平、谷口 尚. 血管柄付腓骨皮弁にて再建された両側性上顎切除患者にインプラントを応用した顎義歯を装着した1症例. 日本補綴歯科学会 120回学術大会. 2011.5.20-22. 広島国際会議場 広島
- 45) 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
- 46) 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

- 47) 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
- 48) 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
- 49) 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
- 50) 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
- 51) 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
- 52) 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
- 53) 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
- 54) 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
- 55) Kimura J, Shiota M, Kon K, Machida T, Fujii M, Kasugai S. Application of hydroxyapatite fiber for bone augmentation. 19<sup>th</sup> annual Scientific Meeting of European Association for Osseointegration 2010.10.6-7 Glasgow Convention Center, Glasgow, UK
- 56) 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. 19<sup>th</sup> annual Scientific Meeting of European Association for Osseointegration 2010.10.6-7 Glasgow Convention Center, Glasgow, UK
- 57) 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
- 58) 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
- 59) 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
- 60) 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
- 61) 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
- 62) 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
- 63) 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
- 64) 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- $\alpha$ -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
- 65) 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
- 66) 岡田常司、宗像源博、立川敬子、春日井昇平.  $\beta$ -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
- 67) 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
- 68) 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
- 69) 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
- 70) 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
- 71) 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 (88<sup>th</sup>) and Exhibition of International Association for Dental Research 2010.7.14-17. Barcelona, Spain

- 72) 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 (88<sup>th</sup>) and Exhibition of International Association for Dental Research 2010.7.14-17. Barcelona, Spain
- 73) Hosokawa R, Torii S, Makino M, Sekine J, Kasugai S. Clinical outcome of immediate-loaded implants: 12-year multicenter study in Japan. General Session (88<sup>th</sup>) and Exhibition of International Association for Dental Research 2010.7.14-17. Barcelona, Spain
- 74) Date Y, Ota M, Yokoyama Y, Iseki S, Kasugai S. Isolation of the genes involved in tooth root morphogenesis. General Session (88<sup>th</sup>) and Exhibition of International Association for Dental Research 2010.7.14-17. Barcelona, Spain
- 75) Noritake K, Kuroda S, Nyan M, Atsuzawa Y, Kasugai S. Feasibility of a modified gelatin hydrogel membrane for GBR. General Session (88<sup>th</sup>) and Exhibition of International Association for Dental Research 2010.7.14-17. Barcelona, Spain
- 76) Kuroda S, Noritake K, Hao J, Nakata H, Kasugai S. Interference in PPAR $\gamma$ 2 and transgene for Osterix may reprogrammed osteogenesis. General Session (88<sup>th</sup>) and Exhibition of International Association for Dental Research 2010.7.14-17. Barcelona, Spain
- 77) Rungsiyanont S, Swasdison S, Dhaneuan N, Kasugai S. Biocompatibility evaluation of gelatin-hydroxyapatite crosslinked scaffold for tissue engineering. General Session (88<sup>th</sup>) and Exhibition of International Association for Dental Research 2010.7.14-17. Barcelona, Spain
- 78) Kondo H, Kihara S, Kobayashi T, Suzuki T, Kuroda S, Kasugai S. Multiple attachment system for the implant retained removable denture. General Session (88<sup>th</sup>) and Exhibition of International Association for Dental Research 2010.7.14-17. Barcelona, Spain
- 79) Hudieb M, Wakabayashi N, Kasugai S. Stress transferring mechanism around microthreaded and smooth dental implants. General Session (88<sup>th</sup>) and Exhibition of International Association for Dental Research 2010.7.14-17. Barcelona, Spain
- 80) Rojbani H, Nyan M, Kasugai S. Osteoconductivity Of alfa, betaTCP and HA with/without simvastatin. General Session (88<sup>th</sup>) and Exhibition of International Association for Dental Research 2010.7.14-17. Barcelona, Spain
- 81) Zakaria O, Kon K, Kasugai S. Evaluation of a new biodegradable periosteal distractor. General Session (88<sup>th</sup>) and Exhibition of International Association for Dental Research 2010.7.14-17. Barcelona, Spain

### 3. その他（報道発表）

該当無し

### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

#### 1. 特許取得

骨造成器具. 特許出願 2011-198355 (2011.09.12) 特許出願人：国立大学法人東京医科歯科大学 発明者：春日井昇平、オサマ ザカリア

#### 2. 実用新案登録

該当なし。

#### 3. その他

該当なし。

臓器置換型再生歯の開発と再生歯の評価

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**

歯の再生医療の実用化に向けたエビデンスを創出するために、本研究グループが確立した再生歯胚の作製技術を応用して、マウスモデルにおける歯および歯周組織の包括的再生を可能とする機能的な歯の再生治療技術のコンセプトを実証した。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、大型動物であるイヌモデルにおいても再生歯胚の作製技術を開発し、岡山大学グループと共同で再生歯の発生および口腔内への萌出・咬合機能を明らかとした。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も明らかとした。これらの研究成果により実験的再生歯を用いた臨床応用の実現可能性を示した。

**A. 研究目的**

本研究グループが確立した臓器置換型再生歯を作製する技術（*Nature Methods* 4, 227-230, 2007）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してきた。本研究課題では歯の再生医療技術の臨床応用を視野に、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ことを目的とする。そのためマウスモデルにて、再生歯胚および再生歯ユニット移植による機能的な歯の再生技術を開発すると共に、イヌモデルにおける再生歯胚を作製するための細胞操作なら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の探索、ならびに採取プロトコルの確立に向けて、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）

再生歯胚からの再生歯の萌出、並びにその機能を解析するために、まず成体マウスにおける歯牙喪失動物モデルを開発した。成体マウス上顎第一臼歯を抜歯して歯の欠損部を治癒させた後、直径 1.0 mm の移植窩を形成し、胎齢 14.5 日のマウス臼歯歯胚から作製した再生歯胚を移植した。移植後、



経時的に再生歯の萌出と咬合をマイクロ CT 撮影、口腔内観察、および組織学的に評価した。

次に、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ため、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し再生歯ユニットを作製した。その後、成体マウスの下顎第一臼歯を抜歯した後に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。加えて、再生歯ユニットを広範性の骨欠損を伴う歯槽骨部位に移植し、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。

成体口腔内に萌出ならびに生着した再生歯が、天然歯と同等の歯の機能を有するかを明らかとするために、成体口腔内に萌出ならびに生着した再生歯を用いて機能解析を行った。まず、咬合に耐えうる歯の硬さを有するかを明らかとするため、再生歯のエナメル質と象牙質におけるヌープ硬度測定を行った。次に、再生歯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、再生歯に実験的矯正力を負荷し、組織学的評価による圧迫側の骨吸収マーカー (TRAP)、ならびに牽引側の骨形成マーカー (Osteocalcin) の検出を行った。さらに再生歯が、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や神経伝達物質を免疫染色にて検出した。また、再生歯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

髄路核の神経線維が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確認することにより、中枢への神経伝達機能について解析した。

### 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)

大型動物における歯の再生の実現可能性を明らかとするために、再生歯胚の作製技術の開発、ならびに岡山大学と共同でイヌ自家歯胚を用いた移植モデルの開発を行った。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小臼歯部の第 2、第 3、第 4 永久歯歯胚を摘出し、ディスパーゼ酵素処理により上皮組織と間葉組織に分離した後、間葉組織はコラゲナーゼとトリプシンによる酵素処理によって単一化した間葉細胞を取得した。これらの間葉細胞を上皮組織と歯胚再構成を行い、器官培養を 2 日間行って細胞を凝集させて再生歯胚を作製した。

次に再生歯胚が成体の顎環境下で発生し、口腔内に萌出・機能化するかどうかを明らかとするために、歯胚移植モデルの構築を行った。高等生物であるイヌは他家の歯胚移植による免疫学的拒絶が確認されたことから、自家の天然歯胚、ならびに自家再生歯胚を用いた移植モデルを構築し、経時的な歯胚発生をマイクロ CT にて解析した。

### 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)

歯胚形成細胞に誘導に関わる遺伝子の探索するため、歯胚発生過程特異的に発現する遺伝子群より歯胚形成細胞への運命決定

に関わる遺伝子群の同定を試みた。そのため歯胚発生初期過程である胎齢 11.5 日、蕾状期である 12.5 日、帽状期である 14.5 日、鐘状期である 16.5 日、後期鐘状期である 18.5 日のマウス胎児から抽出した下顎臼歯歯胚の total RNA を抽出し、Agilent 4 x 44K Whole Mouse Genome を用いてマイクロアレイ解析を行った。歯胚発生の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、歯胚発生初期過程で特異的に発現する遺伝子を選別した。これらの遺伝子の局在を *in situ* hybridization 法を用いて解析し、歯胚発生関連遺伝子のデータベースを構築した。

さらに遺伝子機能の解析に向けて、遺伝子導入型歯胚の作製技術の確立を行った。歯胚細胞へ導入可能なアデノウイルス発現系を用いて歯胚に候補遺伝子を導入し、器官培養により発生に及ぼす影響をモニタリングすることで、候補遺伝子の機能を解析する実験システムの構築を実施した。

#### 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。さらに歯の形態形成に関与する遺伝子解析として、項目①-3 にてスクリーニングを実施した歯胚発生に関わる遺伝子群の中で、エナメルノット特異的に発現する Growth arrest and DNA-damage-inducible 45 gamma (Gadd45g) について着目し、Gadd45g 遺伝

子導入による歯冠幅制御に関わる分子機構の解析を行うと共に、Gadd45g ノックアウトマウスにおける歯冠幅の解析をマイクロ CT ならびに組織学的解析により実施した。

#### 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、小動物用マイクロ CT を用いて、生存したままマウス腎皮膜下において歯胚発生を評価する方法を構築した。また、イヌ顎骨における歯胚発生解析においては、ヒト用マイクロ CT を用いて発生過程を経時的に解析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)

8~13 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 CT 評価ならびに組織学的解析を行った。

(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 8~13 歳児の第 3 大臼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・コンセントの方法及び方法

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、個人情報の保護、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

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; N09037号、N10040号、N11003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5mg/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日および生後30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にした。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)

再生歯胚を成体マウスの歯喪失部位に移植したところ、移植 37 日目には、約 60% の頻度で再生歯が萌出し、49 日目には対合歯と咬合するまで成長した。また再生歯は、エナメル質や象牙質、歯髄、歯根膜、歯槽骨が天然歯と同等の組織構造を有していることが判明した。一方、歯の咀嚼機能には、歯の硬組織の硬度が重要であるため、再生歯のヌープ硬度を測定したところ、移植 11 週後の再生歯のエナメル質、象牙質の硬度は、いずれも 9 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、再生歯は天然歯と同じ組織構造を有して発生すると共に、咀嚼可能な機能的な歯へと成長することが明らかになった。

萌出した再生歯を経時的に観察してみると、再生歯は対合歯との咬合面に到達すると成長が停止した。さらに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、17 日目になると、歯根膜を介した歯槽骨のリモデリングが完了した。これらの結果から、再生歯は歯根膜を介した咬合の確立と維持する機能を有していることが明らかになった。

ま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、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。

これらの結果より、成体マウスの顎骨内において、再生歯胚に由来する機能的に完全な再生歯を創り出すことが可能であることを明らかとした (*PNAS USA*, 106(32), 13475-13480, 2009)。

次に、人為的に作製した再生歯胚から再生歯ユニットを作製するために、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、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。また、この再生歯ユニット作製技術を応用することにより、複数本の成熟した再生歯が一つの歯槽骨に包含された多数再生歯ユニットの作製が可能であった。この多数再生歯ユニットは、各々が独立した歯の組織構造を有しており、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構造は天然歯と同等であり、多数の歯の欠損にも対応可能な技術であることが示された。

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隔離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%)。さらに、通常では骨再生が起こらない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、歯槽骨回復を伴う生着が可能であることが示された。また、再生歯ユニットのエナメル質および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り、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。さらに顎骨に生着した再生歯ユニットは、再生歯胚移植により発生・萌出した再生歯と同様に、骨リモデリングを可能とする歯根膜機能、および外部侵害刺激を中枢に伝達可能な神経機能を有していることが示された。

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*, e21531, 2011)。

### 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、生後 30 日のビーグル犬顎骨から帽状期に該当する第 2、第 3、第 4 小臼歯部の永久歯歯胚の摘出し、器官原基法を用いてこれらの歯胚から再生歯胚を作製する技術を確立した。このイヌ再生歯胚を免疫不全マウスの腎臓皮膜下に移植を行うことにより、経時的に歯胚発生による歯冠硬組織の形成を認め、組織学的にも天然歯胚の発生と同等であることが示された。

さらにイヌ再生歯胚が成体の顎環境下で発生し、口腔内に萌出・機能化するかどうかを明らかとするために、自家歯胚移植モデルを構築した。生後 30 日のビーグル犬から採取した天然歯胚を歯の喪失部位に自家移植を行うことにより、移植 40 日目には顎骨内における歯胚発生が認められ、移植 120 日目には口腔内に移植歯が萌出することが示された。同様に、人為的に作製した再生歯胚を用いて自家歯胚移植を行ったところ、マイクロ CT 解析により顎骨内における歯胚発生が認められ、移植 120 日目には口腔内への萌出が明らかとなった。発生した再生歯は、歯根周囲の歯槽骨と歯根膜腔を介して生着していることが示されており、移植して発生・萌出した天然歯と同等の歯の構造を有していることが明らかとなった。さらに口腔内に萌出した再生歯は、脱落等はなく長期間維持されており、日常の食事に耐えうる咬合機能を有していることが示された。

以上の結果より、生後の個体から採取可能な永久歯歯胚を用いて、再生歯胚を作製

することが可能であり、成体の口腔内にて発生・萌出し、咬合機能を果たし得ることから、大型動物であるイヌモデルにおける機能的な歯の再生の実現可能性が示された。

#### 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）

誘導期の天然歯胚において高発現する遺伝子をcDNAマイクロアレイより網羅的に解析したところ、胎齢11.5～14.5日の天然歯胚で高発現する76遺伝子が得られた。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にて発現パターン解析を解析したところ、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。

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。遺伝子導入型歯胚を作製し、各候補遺伝子の過剰発現およびノックダウンによる歯胚発生に影響を及ぼす遺伝子群の組織形態学的解析を行ったところ、細胞増殖に関わる遺伝子群が存在することが判明し、これらの遺伝子群が歯の形態形成に関わる可能性が示された。

#### 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したところ、両者の細胞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制御が示唆された (Ishida K et al., *Biochem Biophys Res Commun* 405: 455-461, 2011)。

次に再生歯の大きさ・形態の制御機構の解明に向けて、エナメルノット特異的に発現する Gadd45g について着目し、

Gadd45g 遺伝子導入による歯冠幅制御に関わる分子機構の解析を行った。Gadd45g を歯胚上皮細胞に遺伝子導入したところ、エナメルノット形成に関わる Shh、Fgf4、Wnt10b、p21、Lef1 の発現が誘導されることが判明した。これらの遺伝子群はエナメルノットで発現する歯の発生に必須な遺伝子群であることから、Gadd45g は歯の発生制御に関与する可能性が考えられると共に、エナメルノット遺伝子の発現誘導を介してエナメルノット形成を誘導する可能性が示された。次に、臼歯上皮組織の増殖に及ぼす Gadd45g の影響を解析するため、Gadd45g を遺伝子導入し、その細胞増殖を Ki67 の免疫染色によって解析したところ、Gadd45g は歯胚上皮組織の細胞増殖を抑制することが判明した。鐘状期臼歯歯胚における p21 の発現部位を解析したところ、細胞増殖が停止する咬合面上皮細胞で発現することから、Gadd45g は p21 による上皮細胞の増殖抑制を介して、歯冠幅の制御に関与している可能性が示された。

さらに、Gadd45g が歯の発生や形態形成に必須の役割を持っているかを解析するため、Gadd45g ノックアウトマウス (Gadd45<sup>-/-</sup>) における歯胚発生について解析した。生後 2 週齢マウスの歯冠完成歯では、大きさや形態に異常は見られないものの、鐘状期の臼歯の大きさが有意に減少することから、Gadd45<sup>-/-</sup> では発生段階の歯の大きさが減少することが判明した。

以上の結果から、Gadd45g は歯胚上皮組織においてエナメルノットの形成に関与する可能性があると共に、p38 MAPK 経路の活性化を介した p21 の発現制御によって、歯冠上皮細胞の増殖を抑制し、歯冠幅の決

定に寄与していることが示された。

#### 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、小動物用ならびにヒト用マイクロ 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方法を構築した。これらの CT データを画像解析ソフト (Imaris, Carl Zeiss MicroImaging, Germany) を用いることにより、天然歯ならびに再生歯の歯冠幅や大きさ、さらに歯冠の咬頭数や咬頭間距離などの解析が可能となった。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過程における 3 次元的な細胞動態、ならびに歯胚の形態形成を数日間にわたり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、エナメル質や象牙質の硬度 (ヌープ硬度) 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も可能である。

#### 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)

8~13 歳児の第 3 大臼歯歯胚から採取される歯乳頭組織、および歯小嚢組織を免疫不全マウスの皮下、ならびに腎臓皮膜下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。さらに上記組織から Out growth 法により細胞を取得し、効果的な細胞培養、ならびに継代を

行うことが可能となり、歯乳頭細胞からは象牙質が形成され、歯小囊細胞からは歯根膜線維とセメント質が形成されることを明らかとした。このことから、歯の組織再生に利用可能な細胞シーズの取得が可能であることが示された。

#### D. 考察

マウスモデルにおいて、再生歯胚移植ならびに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、生理的機能を有する臓器置換型再生歯による歯科再生治療のコンセプトが示された。また大型動物であるイヌモデルにおいても、再生歯胚の作製技術の開発、ならびに成体口腔内における機能的な再生歯の発生・萌出が実証された。イヌモデルによる再生歯においては、生後の永久歯歯胚から取得した細胞を用いて作製されたものであり、ヒトにおける第3大臼歯の応用も視野に入れた前臨床研究としてのエビデンスを創出するものである。今後は、再生歯胚を作製可能なヒト細胞シーズの探索や実用化検討を進めることにより、歯の再生医療の実現可能性が拓かれるものと考えられる。

#### E. 結論

小型動物モデルにおいて、3次元的な細胞操作技術により人為的に再生歯胚を作製し、成体環境下で機能的な歯・歯周組織の包括的再生が可能であることを実証した。さらに前臨床研究として、大型動物における臓器置換型再生歯の実現可能性が示されたことから、今後のヒト臨床応用に向けたエビデンスが創出された。

#### F. 健康危険情報

該当なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Etsuko Ikeda, Ritsuko Morita, Kazuhisa Nakao, Kentaro Ishida, Takashi Nakamura, Teruko Takano-Yamamoto, Miho Ogawa, Mitsumasa Mizuno, Shohei Kasugai and **Takashi Tsuji**, Fully functional bioengineered tooth replacement as an organ replacement therapy, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **106**(32), 13475-13480, 2009.

Kazuhisa Nakao, Mayumi Murofushi, Miho Ogawa and **Takashi Tsuji**, Regulations of size and shape of the bioengineered tooth by a cell manipulation method, *Micro-NanoMechatronics and Human Science 2009. MHS 2009. International Symposium on.*, 123-126, 2009.

Kazuhisa Nakao and **Takashi Tsuji**, Strategies underlying research in tooth regenerative therapy as a possible model for future organ replacement, *Interface Oral Health Science 2009*, 20-26, 2010.

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.

Masamitsu Oshima, Mitsumasa Mizuno, Aya Imamura, Miho Ogawa, Masato Yasukawa, Hiromichi Yamazaki, Ritsuko Morita, Etsuko Ikeda, Kazuhisa Nakao, Teruko Takano-Yamamoto, Shohei Kasugai, Masahiro Saito and **Takashi Tsuji**. Functional tooth regeneration using a bioengineered tooth unit as a mature organ replacement regenerative therapy. *PLoS ONE*, 6(7):e21531, 2011.

Masahiro Saito, Misaki Kurokawa, Masahito Oda, Masamitsu Oshima, Ko Tsutsui, Kazutaka Kosaka, Kazuhisa Nakao, Miho Ogawa, Ri-ichiroh Manabe, Naoto Suda, Ganburged Ganjargal, Yasunobu Hada, Toshihide Noguchi, Toshio Teranaka, Kiyotoshi Sekiguchi, Toshiyuki Yoneda and **Takashi Tsuji**. ADAMTSL6 $\beta$  rescues fibrillin-1 microfibril disorder in Marfan syndrome mouse model through the promotion of fibrillin-1 assembly. *Journal of Biological Chemistry*, 286(44), 38602-38613, 2011.

Masahiro Saito, **Takashi Tsuji**,

Extracellular matrix administration as a potential therapeutic strategy for periodontal ligament regeneration.

*Expert Opin Biol Ther*, Mar; 12(3): 299-309, 2012.

齋藤正寛、池田悦子、中尾一久、**辻孝**：  
＜総説＞歯の再生医療の最前線「再生歯による歯欠損部の機能的な再生」、*歯界展望*（医歯薬出版株式会社）、115(1)、9-16、2010.

大島正充、**辻孝**：＜総説＞歯の再生研究の進展と課題、*再生医療*（メディカルレビ

ュー社）、9、76-83、2010.

**辻孝**：＜総説＞口腔組織（歯、歯周組織、軟骨、象牙質）の再生－歯科再生治療の実現に向けた研究戦略と展開－、*歯科医療の未来を創る*（日本歯科医学会）、15-19、2010.

森田梨津子、**辻孝**：＜総説＞次世代再生医療としての機能的な歯の再生、*月刊バイオインダストリー*（シーエムシー出版）、27(5)、44-51、2010.

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*（株式会社ヒューロン・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.

齋藤正寛、**辻孝**：＜総説＞蘇る臓器、再生医療の実現化への挑戦、*科学フォーラム2011年6月号*（東京理科大学）、28(6)、34-35、2011.

大島正充、齋藤正寛、辻 孝：＜総説＞次世代の歯科治療システムとしての歯科再生治療～組織修復再生治療と臓器置換再生治療としての歯の再生～、*日本歯科医師会雑誌*、**64(5)**、23-34、2011年8月10日

大島正充、辻 孝：＜総説＞次世代の歯科再生治療の実現に向けて、*歯界展望 (医歯薬出版株式会社)*、**118(5)**、774-778、2011.

大島正充、辻 孝：＜総説＞歯の再生治療の実現に向けて、*臨床麻酔 (真興交易 (株) 医書出版部)*、**35(11)**、1623-1632、2011.

齋藤正寛、辻 孝：＜総説＞マルファン症候群における歯根膜治癒不全の回復機構、*CLINICAL CALCIUM(医薬ジャーナル社)*、**22(1)**、35-42、2012.

大島正充、辻 孝：＜総説＞歯の再生治療から臓器置換再生医療の実現へ、*日本歯科評論 (ヒョーロンパブリッシャーズ)*、**72(1)**、9-11、2012.

蘇志鵬、李勝揚、辻 孝：＜総説＞認識有關「牙齒再生」之幹細胞發展的基本專有名詞、*Journal of Taiwan Orthodontic Society August 2011*、**3(4)**、73-80、2011.

齋藤正寛、辻 孝：＜総説＞抗加齢医学における歯の再生の役割、*抗加齢学会誌*、No.9、NO.2 14-23 2012.

## 2. 学会発表

### 82) 招待講演 (国際)

Takashi Tsuji, Tooth Regenerative Therapy as a Future Organ Replacement Regenerative Therapy, The Second International Symposium of Medical and Dental Education in Okayama, Okayama, Japan, May 17, 2009.

Takashi Tsuji, Tooth regenerative therapy, Summer School & IAAID Symposium 2009 International Conference on Occlusion in Japan, Tokyo, Japan, September 18, 2009.

Kazuhisa Nakao and Takashi Tsuji, A three-dimensional Cell Processing Technology to Regenerate a Fully Functioning Bioengineered Organ for Future Organ Replacement Regenerative Therapy, JUNBA 2010, San Francisco, U.S.A., January 12, 2010.

Takashi Tsuji, Fully functional bioengineered tooth replacement as a future tooth regenerative therapy, the All-Russia Scientific Summit, Moscow, Russia, February 8, 2010.

Takashi Tsuji, Tooth Regenerative Therapy as a Future Organ Replacement Regenerative Therapy, 東京医科歯科大学 GCOE 講演会, Ibaragi, Japan, February 22, 2010.

Masahiro Saito and Takashi Tsuji, Fully functional bioengineered tooth replacement as an organ replacement therapy, JAPAN-ISRAEL “STEM CELLS” WORKSHOP 22-26.2.2010, Israel, February 23, 2010.

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.

Masahiro Saito and Takashi Tsuji, The

forefront of regeneration therapy for periodontal ligament, ISBB Taipei Workshop, Taipei, Taiwan, July 8, 2011.

**Takashi Tsuji**, Tooth Regenerative Therapy as a Future Organ Replacement Regenerative Therapy, Taiwan Orthodontic Society 2011 Annual Session, Taipei, Taiwan, August 13, 2011.

**Takashi Tsuji**, Fully Functional Bioengineered Tooth Replacement as a Future Tooth Regenerative Therapy, Program for 4th Hiroshima Conference on Education and Science in Dentistry, 広島・広島国際会議場, October 9, 2011.

### 83) 招待講演 (国内)

**辻 孝**、次世代再生医療としての臓器置換再生医療を目指して一歯をモデルとした器官原基からの再生一、第 52 回日本腎臓学会学術総会、パシフィコ横浜、2009 年 6 月 3 日

**辻 孝**、歯の再生と再生医療について、臨床研修医特別セミナー、千葉、日本大学松戸歯学部付属病院、2009 年 7 月 23 日

**辻 孝**、再生医療の現状と次世代再生医療としての歯の再生、東北化学薬品株式会社先端学術情報セミナー、岩手、東北化学薬品株式会社、2009 年 7 月 24 日

**辻 孝**、歯科再生医療に向けた研究の現状とその実現可能性、岩手大学歯学部オープンリサーチプロジェクト発表会、岩手、岩手医科大学、2009 年 7 月 25 日

**辻 孝**、歯科再生医療に向けた研究の展開とその実現可能性、歯学研究科ハイテク・

リサーチ・センター整備事業研究成果報告会、北海道、北海道医療大学、2009 年 7 月 31 日

**辻 孝**、次世代歯科治療を目指した歯の再生研究の進展、日本再生歯科医学会第 7 回学術大会および総会、福岡、九州歯科大学、2009 年 9 月 12 日

**辻 孝**、次世代再生医療に向けた戦略と展開一歯と毛の再生医療の可能性一、第 32 回日本美容外科学会総会 第 106 回学術集会、神奈川、横浜ベイシェラトン、2009 年 9 月 25 日

**辻 孝**、次世代の歯科治療としての歯の再生、新潟大学大学院特別セミナー (発生・再生構築学コース)、新潟、新潟大学、2009 年 10 月 5 日

**辻 孝**、臓器置換再生医療に向けた三次元細胞操作技術開発と機能的器官再生、第 31 回日本バイオマテリアル学会大会、京都、京都テルサ、2009 年 11 月 17 日

**辻 孝**、歯科再生医療に向けた研究の現状とその実現可能性、神奈川歯科大学第 44 回総会、神奈川、神奈川歯科大学、2009 年 12 月 5 日

**辻 孝**、臓器置換再生医療の実現に向けた戦略 ～歯と毛髪再生をモデルとして～、第 7 回再生医療の実用化に関するニーズ発表会、兵庫、神戸臨床研究情報センター、2010 年 2 月 26 日

辻 孝、歯科再生治療の実現に向けた研究戦略と展開、埼玉医科大学ゲノム医学研究センター運営委員会承認学術集会、埼玉、埼玉医科大学、2010年3月2日

辻 孝、三次元的な細胞操作による機能的な歯の再生、マルチスケール操作によるシステム細胞工学（バイオ操作）第8回公開シンポジウム、福岡、九州大学、2010年3月11日

辻 孝、次世代再生医療としての「歯の再生」の戦略と展開、第9回日本再生医療学会総会、広島、広島国際会議場、2010年3月19日

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、日本歯科産業学会春期講演会、東京・東京医科歯科大学、2011年2月20日

辻 孝、歯の再生研究の現状と将来、東京歯科大学講義、東京・東京歯科大学、2011年1月24日

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、九州大学歯学研究大学院講義、福岡・九州大学、2010年12月3日

辻 孝、未来の歯科治療を創造する歯科再生医療－研究の現状と将来展望－、愛知学院大学歯学部創立50年記念講演会、愛知・名古屋観光ホテル、2010年11月27日

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

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

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

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

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

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

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

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

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

辻 孝、臓器置換再生医療の実現を目指して－歯や毛髪再生からアプローチした研究