

# マルファン症候群における 歯根膜治癒不全の回復機構

齋藤 正寛<sup>\*1, 2)</sup> 辻 孝<sup>\*1~3)</sup>

マルファン症候群とは、機械的圧力の負担の大きい大動脈や、骨、肺、歯根膜で、体の弾力を調節する微細線維の形成不全により大動脈瘤、骨格の異常成長、肺気胸、水晶体脱臼、歯周病などの重篤な疾患を発症する結合組織疾患である。近年、微細線維の成分である ADAMTSL6 $\beta$  が微細線維形成の誘導能を有することが見られ、さらにマルファン症候群における微細線維形成不全を回復させることを明らかにした。このことから ADAMTSL6 $\beta$  はマルファン症候群の微細線維形成不全による疾患の治療に有効である可能性が示された。

本稿では、ADAMTSL6 $\beta$  のマルファン症候群における微細線維形成不全の回復効果について、歯根膜をモデルに解説する。

Calcium metabolism associated with oral diseases.

## *Molecular mechanisms for the improvement of wound healing ability of periodontal ligament in Marfan's syndrome.*

*Department of Biological Science and Technology, Faculty of Industrial Science and Technology,  
Tokyo University of Science/Research Institute for Science and Technology, Tokyo University of Science, Japan.*

*Masahiro Saito, Takashi Tsuji*

Marfan's syndrome (MFS) is a systemic disorder of the connective tissues caused by insufficient fibrillin-1 microfibril formation and can cause cardiac complications, emphysema, ocular lens dislocation and severe periodontal disease. ADAMTSL6 $\beta$ , a microfibril-associated extracellular matrix protein that has been implicated in fibrillin-1 microfibril assembly is able to improve microfibril insufficiency in MFS mice model. These findings suggest a new therapeutic strategy for the treatment of MFS through ADAMTSL6 $\beta$ -mediated fibrillin-1 microfibril assembly. We here review effect on ADAMTSL6 $\beta$  to the improvement of microfibril insufficiency in periodontal tissue as a model.

\*<sup>1)</sup> 東京理科大学 総合研究機構

\*<sup>2)</sup> 東京理科大学大学院 基礎工学研究科 生物工学専攻

\*<sup>3)</sup> 株式会社オーガテクノロジーズ

\*<sup>1, 2)</sup> (さいとう・まさひろ)

\*<sup>1~3)</sup> (つじ・たかし)

はじめに～背景～

マルファン症候群は微細線維と呼ばれる細胞外マトリックスの異常が原因で体全体の結合組織が脆弱化し、弾力性が減少してしまい、大動脈、肺、皮膚、関節、骨、歯根膜といった機械的圧力の負担の大きい組織が機能に異常をもたらしてしまう結合組織疾患である<sup>1)</sup>。そのため、大動脈瘤、肺気胸、関節の異常可動、骨の異常成長、歯周病といったさまざまな病気を起こす。このマルファン症候群は遺伝病であるにも関わらず、5千人に1人と高い割合で発病し、国内でも2万5千人近くの患者がいると考えられている<sup>2)</sup>。マルファン症候群は、

症状によりI型、II型に分類されており、I型は微細線維の主成分である fibrillin-1 遺伝子のミスセンス変異が原因で症状がはっきりとみられるタイプで、II型では眼に特徴的な症状が出ており、それ以外の症状が見られる場合もある<sup>3)4)</sup>。I型を発病するものが最も多く、その原因となる fibrillin-1 は calcium-binding Epidermal Growth Factor-like (caEGF) motif の繰り返し構造を有する細胞外マトリックス因子であり、組織の強度の維持に重要な弾性機能の役割を果たすばかりでなく、TGF- $\beta$  と結合することでその機能を調節する作用も持っている<sup>5)</sup>。Fibrillin-1 遺伝子の caEGF

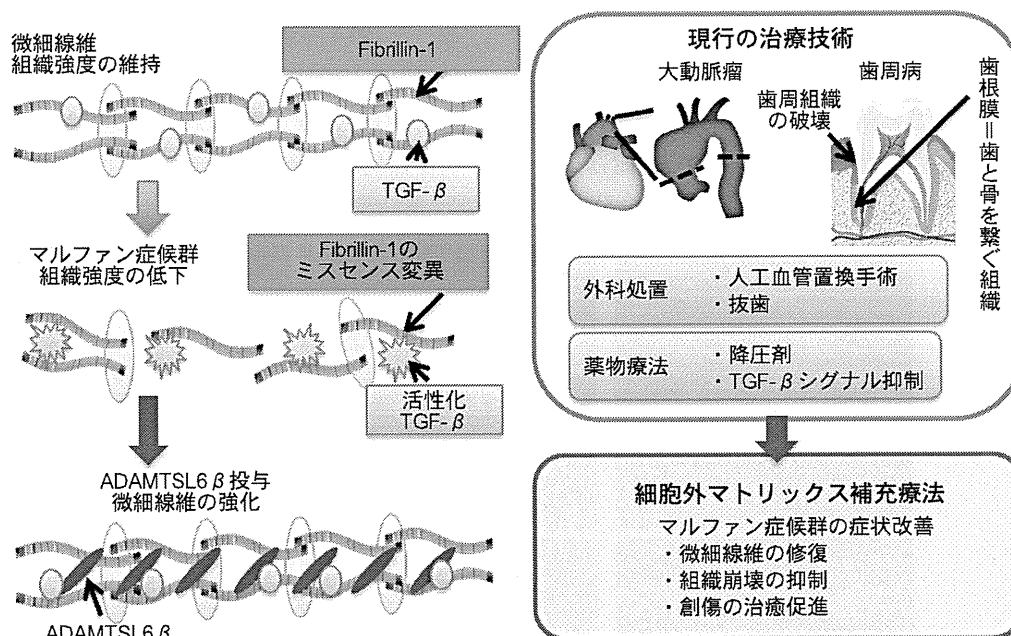


図1 マルファン症候群と細胞外マトリックス補充療法による治療戦略図

左側：マルファン症候群では微細線維形成不全が起こり、弾力性が低下するばかりか TGF- $\beta$  が活性化して組織の崩壊が進行する。

右上図：マルファン症候群では大動脈瘤、歯周病などの疾患を発症する。これらの疾患に対し、外科処置あるいは薬物療法で対応されてきたが、微細線維崩壊を改善する治療は開発されていない。

右下図：細胞外マトリックス補充療法：微細線維成分である ADAMTSL6  $\beta$  を用いて微細線維を強化し、マルファン症候群の症状改善を図る。

(筆者作成)

TGF- $\beta$  : transforming growth factor- $\beta$  (トランスフォーミング増殖因子。結合組織の構成成分や分解酵素の産生を促す。骨においては、骨芽細胞の分化および成熟に対しては、抑制的に作用する。)

motifの変異がマルファン症候群で多く検出されており、その結果として微細線維の形成不全を起こすため、体の強度が著しく低下するばかりでなく、TGF- $\beta$ が活性化し、周囲の細胞に作用してマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)-9の産生が高まり、組織の崩壊が促進する<sup>6)</sup>(図1左上側)。そのためマルファン症候群でみられる特徴的な症状が発症する(図1右上側)。

マルファン症候群の治療は、脆弱化した大動脈や心臓の負担を下げるため、降圧薬を用いた薬物療法、また、大動脈解離が起こりそうなケースでは、人工血管で置き換える外科手術で対応され、また、歯周病においては心内膜炎の原因になることから、そのほとんどが抜歯処置で治療されてきた<sup>2)7)8)</sup>。最近ではロサルタンがTGF- $\beta$ シグナル抑制効果を有することが報告され、同薬剤を用いて組織崩壊を抑える大動脈瘤の予防治療も行われ

るようになった(図1右側)。このようにマルファン症候群に対する外科手術およびTGF- $\beta$ を抑制する薬物療法で、その症状を予防できるようになったか<sup>9)10)</sup>、マルファン症候群の主原因である微細線維の機能低下を回復させる、新たな治療技術の開発が大きな課題として考えられてきた。

#### 微細線維再生を誘導するADAMTSL6 $\beta$ の発見

これまで微細線維形成機構は、fibrillin-1がタンデムに自己結合し線維構造を形成し、また結合部分で球状構造を形成することで弾性機能を発揮していると考えられてきた、しかし、fibrillin-1による微細線維の形成機構のほとんどは不明であった(図1左側上)。近年になり、fibronectinとfibrillin-1の結合が微細線維の形成に必須であることが報告され、fibrillin-1と結合するタンパク質が微細線維形成を調節している可能性が示され

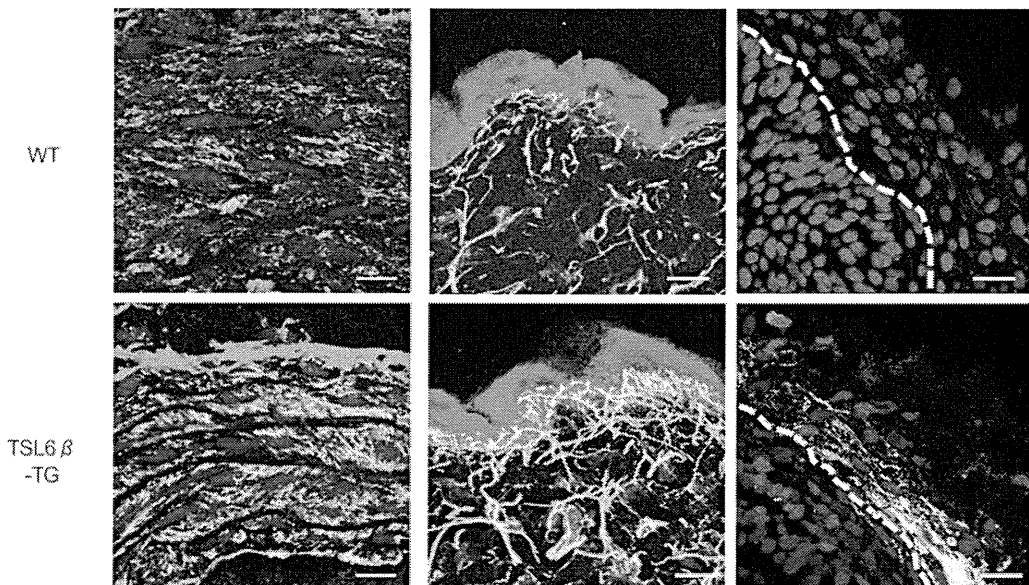


図2 ADAMTSL6 $\beta$ は結合組織の微細線維を増加する

ADAMTSL6 $\beta$ を過剰発現させ(TSL6 $\beta$ -TG)WT(正常マウス)と大動脈、皮膚および歯根膜における微細線維形成能を比較した。TSL6 $\beta$ -TGでは微細線維(黄緑の線状構造物)が増えていることが観察される。Bar: 50 $\mu$ m (文献15より)

MMP: matrix metalloproteinase (マトリックスメタロプロテアーゼまたはマトリックスメタロプロティナーゼ)

た<sup>11)12)</sup>。一方、大阪大学蛋白質研究所の関口清俊教授のグループでは、新規タンパク質を網羅的に探索し、線維形成能力を有するタンパク質のスクリーニングが行われた<sup>13)</sup>。その結果、2010年にADAMTSL6 $\beta$ が微細線維と結合するタンパク質

として発見され、そしてこのタンパク質も微細線維の形成を促進できることが示された<sup>14)</sup>。そこで筆者らの研究グループでは、ADAMTSL6 $\beta$ を用いてマルファン病における微細線維形成不全を解決する治療技術を開発できるかを調べるために、

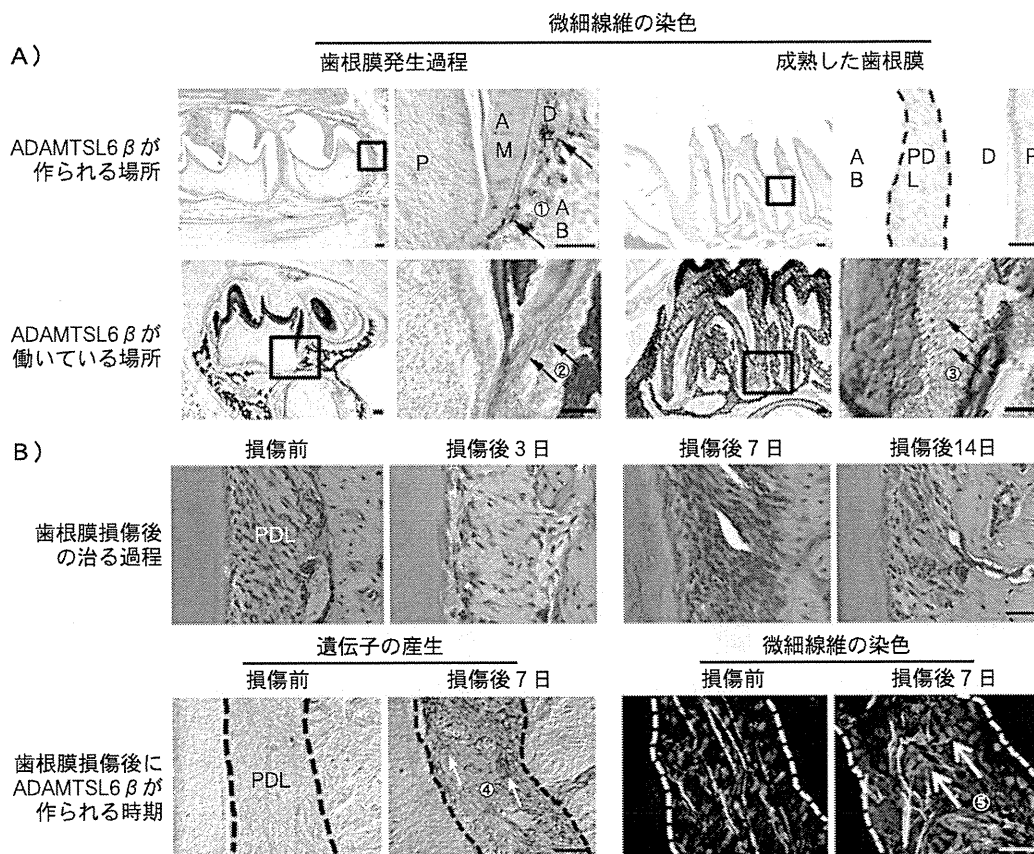


図3 ADAMTSL6 $\beta$ は歯根膜の微細線維の修復に関わる

A) 歯根膜の発生過程におけるADAMTSL6 $\beta$ の産生を示す。歯根膜発生過程におけるADAMTSL6 $\beta$ の産生の働く場所(下段、矢印②、③)と遺伝子の産生される場所(上段、矢印①)。ボックスの拡大図をそれぞれの右側に示す。

B) 歯根膜治癒過程におけるADAMTSL6 $\beta$ の産生を示す。

上段：歯を再植し歯根膜損傷後の治る過程を示す。3日目では破壊されている像が観察されるが、7日以降で元に戻るのが観察される。

下段：歯根膜修復過程でADAMTSL6 $\beta$ 遺伝子が産生されている像を示す(矢印④)。微細線維の形成量もが歯根膜修復過程で高まる(矢印⑤)。

- AB：歯槽骨
- D：象牙質
- PDL：歯根膜
- AM：エナメル芽細胞
- DF：歯小囊
- バーの長さ：50 $\mu$ m

(文献15より)

ADAMTSL6 $\beta$ が血管および皮膚の微細線維を増やせるかどうかを調べた。全身でADAMTSL6 $\beta$ が過剰に発現するトランスジェニックマウス(TSL6 $\beta$ -TG)を用いて調べたところ、血管、皮膚では正常の動物(WT)と比較して明らかに微細線維が増えていることが観察された。また歯根膜にADAMTSL6 $\beta$ をアデノウイルス発現系で過剰発現させると、微細線維形成促進効果が見られた(図2)<sup>15)</sup>。この研究成果より、ADAMTSL6 $\beta$ は

体内で微細線維を増やす作用を持つことが分かり、マルファン症候群の治療に応用できる可能性が示された。

ADAMTSL6 $\beta$ は歯根膜の傷の治癒に関与する  
次に筆者らは、ADAMTSL6 $\beta$ の微細線維形成不全の改善能力を調べるため、破壊された微細線維を修復する能力を持っているかを調べた。筆者らはこの目的に大動脈、皮膚とくらべ微細線維を

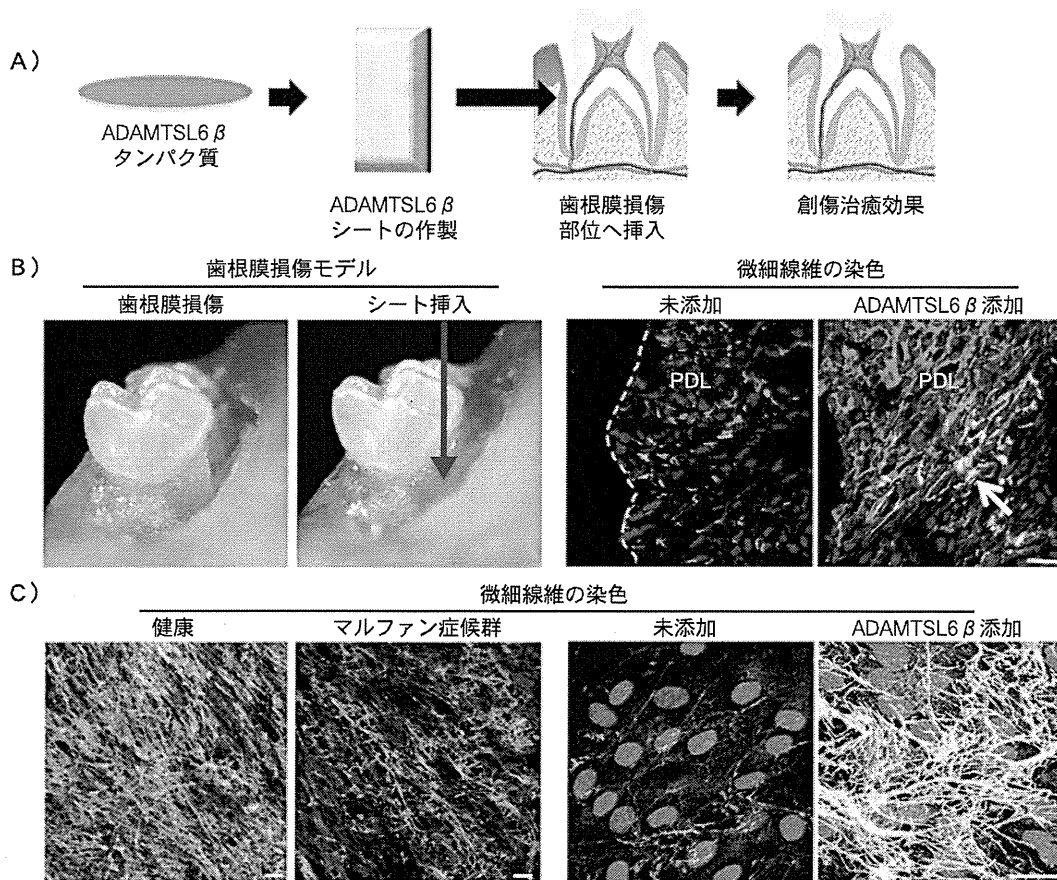


図4 ADAMTSL6 $\beta$ のマルファン症候群における歯根膜の微細線維形成不全改善効果

- A) ADAMTSL6 $\beta$ シートを用いた歯根膜への投与方法の開発
- B) 左側：ADAMTSL6 $\beta$ シート挿入の手順，右側：ADAMTSL6 $\beta$ のシート挿入後微細線維の回復像(矢印)
- C) マルファン患者由来歯根膜細胞を用いた微細線維改善能力の解析  
 左側：マルファン症候群患者の歯根膜細胞と健康な人の微細線維形成能の比較  
 右側：ADAMTSL6 $\beta$ によるマルファン症候群患者の歯根膜細胞の微細線維の回復像  
 バーの長さ：50 $\mu$ m

(文献 15 より)

豊富に含む歯根膜をモデルとして解析した。歯根膜とは歯を支える歯周組織の中でも歯と骨を繋げる靭帯とよく似た組織で、主に咬む力を緩衝するために働いている<sup>16)17)</sup>。また歯根膜は歯周病により非可逆性の崩壊を受けるため、歯周病治療では歯根膜の再生が重要課題となる。マルファン症候群においても広範囲に及ぶ骨の破壊を伴う重篤な歯周病に罹患することが報告されており、歯根膜の微細線維の機能低下が歯周病の悪化に関わる可能性も示唆されている<sup>8)</sup>。ADAMTSL6 $\beta$ が歯根膜の微細線維形成に関わるかを調べるために、歯根膜が作られる発生過程を解析した。歯根膜発生過程で微細線維の形成される様子を観察すると、まだ歯小嚢と呼ばれる歯根形成過程に形成される未熟な歯根膜で豊富に作られていることが分かり、その場所にADAMTSL6 $\beta$ が存在することが観察された(図3A 矢印②)。しかし成熟した歯根膜では、微細線維の形成量の低下と共にその量も

減少した(図3A 矢印③)。次にADAMTSL6 $\beta$ がいつ産生されるのかを見るため、その遺伝子が出ているところを観察すると、歯根膜発生過程の歯小嚢で遺伝子の産生が観察され、しかし成熟した歯根膜では産生されないことが判明した(図3A 矢印①)。このことからADAMTSL6 $\beta$ は歯根膜の微細線維が作られる過程で働く物質であることが考えられた。次にADAMTSL6 $\beta$ が歯根膜の微細線維の修復に関わるかを調べる目的に、歯根膜の創傷治療過程でも同じことが起こるかを観察した。そのため、抜歯により歯根膜を断裂し、その後の治療過程を観察する歯根膜の損傷モデルでADAMTSL6 $\beta$ の動態を調べた。歯根膜の治療過程を見ると損傷後3日では組織の破壊が観察されるが、損傷後7日以降で治療することが観察された(図3B, 上段)。この過程でADAMTSL6 $\beta$ の産生を調べると、歯根膜が治る時期で遺伝子の産生が高まり(図3B 矢印④)、また同時期に微細線

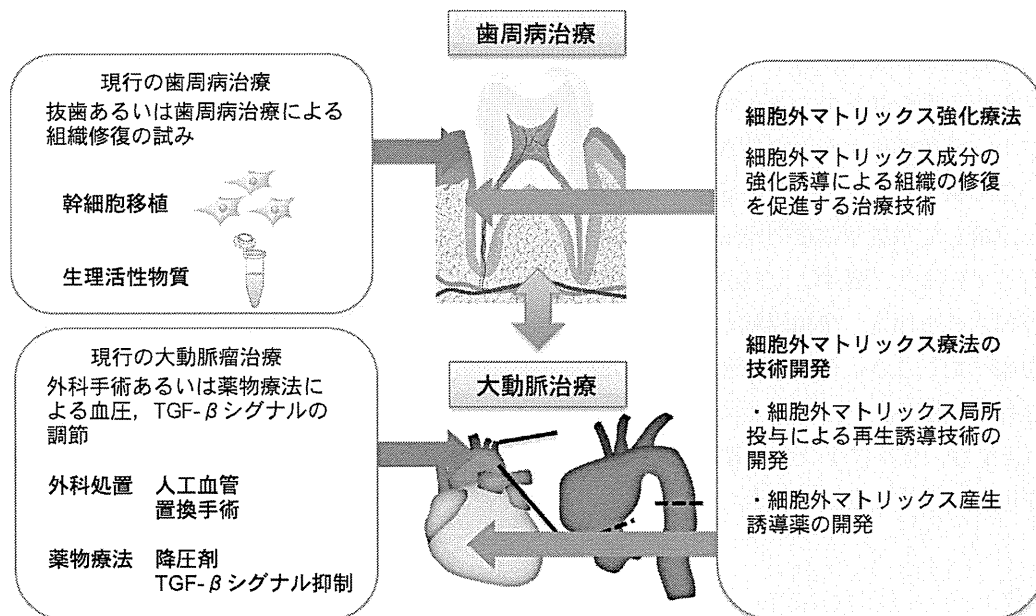


図5 細胞外マトリックス補充療法による新規マルファン症候群の治療技術の開発

細胞外マトリックス強化療法の技術開発は、マルファン症候群の現行の歯周病、大動脈瘤の治療技術で補えなかった症状を改善する新規治療技術として発展する可能性が期待される。

(筆者作成)

維の産生も高まりその修復が行われていることも確認できた(図 3B 矢印 ⑤)。これらの結果より、ADAMTSL6 $\beta$  は歯根膜の微細線維が修復する時に働いている可能性が示された<sup>15)</sup>。

### ADAMTSL6 $\beta$ はマルファン症候群患者由来細胞の微細線維形成不全を改善する

ADAMTSL6 $\beta$  のマルファン症候群に対する治療効果を解析するためには、モデル動物を用いて治癒効果を検証する必要性が考えられる。この目的を達成するため、私たちはマルファン症候群モデル動物を用いて解析を行った。このモデル動物の歯根膜の微細線維形成不全を回復するため、コラーゲンに ADAMTSL6 $\beta$  を含ませたシート状のゲルを作製し(ADAMTSL6 $\beta$  シート: 図 4A)、これを歯根膜に挿入して症状を改善できるかを解析した(図 4B, 左側)。その結果、ADAMTSL6 $\beta$  シートの効果により、微細線維の形成不全を改善させるばかりでなく、傷の治りを促進させることが分かった。(図 4B, 右側)

次に ADAMTSL6 $\beta$  がマルファン症候群患者の微細線維の形成不全を改善できるかを解析するため、マルファン症候群患者から提供された歯根膜細胞を用いて解析した。この細胞は健康な人の歯根膜細胞と比較して微細線維の形成不全が見られる特徴を有している<sup>8)</sup>。(図 4C, 左側)。この細胞に ADAMTSL6 $\beta$  を加え、微細線維の形成を回復出来るかを調べたところ、微細線維形成不全が改善が確認された(図 4C, 右側)。この結果より、ADAMTSL6 $\beta$  は、マルファン症候群の微細線維形成不全を改善できることが示された<sup>15)</sup>。

### おわりに

マルファン症候群の治療は人工血管置換手術の進歩で飛躍的に改善され、降圧薬および TGF- $\beta$  シグナルを抑制する薬物療法と組み合わせることで大動脈瘤の予防効果できることも報告されてき

た。ADAMTSL6 $\beta$  により微細線維形成不全を回復可能であることが判明したことで、細胞外マトリックスの再編成により組織強度を高める「細胞外マトリックス補充療法」の概念がマルファン症候群の新たな治療技術になる可能性が示された。本研究成果により、歯周病のように直接投与可能な部位は組み換えタンパク質の局所投与が有効であるが、大動脈瘤に対処するためには ADAMTSL6 $\beta$  の遺伝子発現を誘導する薬剤の開発の必要性が示唆された。このように「細胞外マトリックス補充療法」は、現行のマルファン症候群の歯周病および大動脈の治療で補えなかった微細線維の強化を導き、これらの病気を予防する新規治療技術として発展する可能性が期待される(図 5)。

### 謝辞

これらの本研究は、厚生労働省科学研究費補助金・難治疾患対策研究事業(H22年度, 代表, 大阪大学 大学院歯学研究科, 研究代表者 村上伸也教授), 文部科学省・科学研究費補助金・基盤B(H21-23, 研究代表者 齋藤正寛), 同・挑戦的萌芽研究(H21-22, 研究代表者 齋藤正寛)による研究費により行われた。

### 文献

- 1) Ramirez F, Dietz HC: Marfan syndrome: from molecular pathogenesis to clinical treatment. *Curr Opin Genet Dev* 17 (3):252-258, 2007.
- 2) Judge DP, Dietz HC: Marfan's syndrome. *Lancet* 366 (9501): 1965-1976, 2005.
- 3) Faivre L, Collod-Beroud G, Callewaert B, et al: Pathogenic FBN1 mutations in 146 adults not meeting clinical diagnostic criteria for Marfan syndrome: further delineation of type 1 fibrillinopathies and focus on patients with an isolated major criterion. *Am J Med Genet A*

- 149A (5) : 854-860, 2009.
- 4) Mizuguchi T, Collod-Beroud G, Akiyama T, et al : Heterozygous TGFBR2 mutations in Marfan syndrome. *Nat Genet* **36** (8) : 855-860, 2004. [Epub 2004 Jul 2004].
  - 5) Ramirez F, Sakai LY : Biogenesis and function of fibrillin assemblies. *Cell Tissue Res* **339** (1) : 71-82, 2010.
  - 6) Neptune ER, Frischmeyer PA, Arking DE, et al : Dysregulation of TGF-beta activation contributes to pathogenesis in Marfan syndrome. *Nat Genet* **33** (3) : 407-411, 2003. [Epub 2003 Feb 2024].
  - 7) Straub AM, Grahame R, Scully C, et al : Severe periodontitis in Marfan's syndrome: a case report. *J Periodontol* **73** (7) : 823-826, 2002.
  - 8) Shiga M, Saito M, Hattori M, et al : Characteristic phenotype of immortalized periodontal cells isolated from a Marfan syndrome type I patient. *Cell Tissue Res* **331** (2) : 461-472, 2008.
  - 9) Habashi JP, Judge DP, Holm TM, et al : Losartan, an AT1 antagonist, prevents aortic aneurysm in a mouse model of Marfan syndrome. *Science* **312** (5770) : 117-121, 2006.
  - 10) Cohn RD, van Erp C, Habashi JP, et al : Angiotensin II type 1 receptor blockade attenuates TGF-beta-induced failure of muscle regeneration in multiple myopathic states. *Nat Med* **13** (2) : 204-210, 2007. [Epub 2007 Jan 2021].
  - 11) Sabatier L, Chen D, Fagotto-Kaufmann C, et al : Fibrillin assembly requires fibronectin. *Mol Biol Cell* **20** (3) : 846-858, 2009.
  - 12) Kinsey R, Williamson MR, Chaudhry S, et al : Fibrillin-1 microfibril deposition is dependent on fibronectin assembly. *J Cell Sci* **121** (Pt 16) : 2696-2704, 2008.
  - 13) Manabe R, Tsutsui K, Yamada T, et al : Transcriptome-based systematic identification of extracellular matrix proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A* **105** (35) : 12849-12854, 2008.
  - 14) Tsutsui K, Manabe R, Yamada T, et al : ADAMTSL-6 is a novel extracellular matrix protein that binds to fibrillin-1 and promotes fibrillin-1 fibril formation. *J Biol Chem* **285** (7) : 4870-4882, 2010.
  - 15) Saito M, Kurokawa M, Oda M, et al : ADAMTSL6beta Protein Rescues Fibrillin-1 Microfibril Disorder in a Marfan Syndrome Mouse Model through the Promotion of Fibrillin-1 Assembly. *J Biol Chem* **286** (44) : 38602-38613, 2011.
  - 16) Nishida E, Sasaki T, Ishikawa SK, et al : Transcriptome database KK-Periome for periodontal ligament development : expression profiles of the extracellular matrix genes. *Gene* **404** (1-2) : 70-79, 2007. [Epub 2007 Sep 2019].
  - 17) Yamada S, Murakami S, Matoba R, et al : Expression profile of active genes in human periodontal ligament and isolation of PLAP-1, a novel SLRP family gene. *Gene* **275** (2) : 279-286, 2001.





# 蘇る臓器， 再生医療の実現化への挑戦

基礎工学部 生物工学科 准教授 齋藤 正寛  
総合研究機構 社会連携部 教授 辻 孝

## はじめに

私たちの研究室では、再生医療を中心とする「革新的な医療」の創出につながる技術開発を目指した研究活動を行っています。そのために、生命科学の領域のなかでも、「器官再生」と「糖タンパク質工学」の分野を重点研究プロジェクトとした研究活動を推進しています（図1）。器官再生プロジェクトでは、人工臓器を作製し、病気で働かなくなった臓器を取り換える臓器置換再生医療、また臓器を生きた状態で長期間維持する臓器培養の技術開発を行っています。このプロジェクトで、歯および毛の再生医療、また臓器培養装置の開発研究を推進しています。糖タンパク質工学プロジェクトでは糖タンパク質医薬品の開発による革新的バイオ医薬品の創造を目指しています。私たちの研究室では、これらの研究活動を通じて、「学術への貢献」「社会への貢献」「人材の成長への貢献」の理念

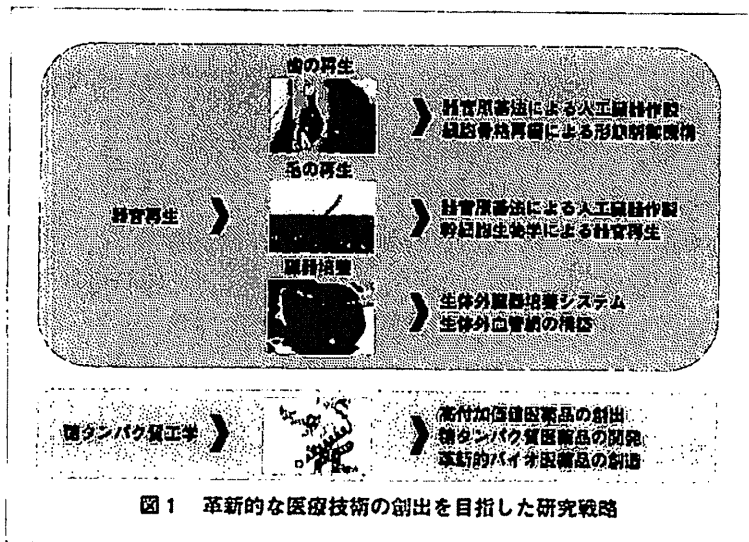
のもとに大学での教育に取り組んでいます。

本稿では上述の研究活動の中でも、歯と毛をモデルとした臓器置換再生医療の研究成果に関して紹介させていただきます。

## 人工臓器の作製と臓器置換再生医療

一般的に臓器の再生と発生は同じ機構で制御されています。例えば、イモリは目の水晶体を取り除いても再生することが知られています。この場合は虹彩の中に存在する幹細胞が失われた水晶体部分へ移動し、水晶体の発生を再現して再生します。再生医療とは、幹細胞を利用して、病気により働かなくなった臓器を機能回復させる治療技術のことです。再生医療は、ドナー不足などの多くの問題を抱えている「臓器移植」を必要とする病気に苦しむ人を助ける新たな治療技術として期待されています。

ほとんどの臓器は、その発生過程で上皮と間葉由来の幹細胞の集合体から成る器官原基と呼ばれる種のような組織から形成されます。私たちは、この器官原基に着目し、細胞操作により人工的に器官原基を形成し臓器を再生させる「器官原基法」の開発を試みました。この「器官原基法」は、次世代の再生医療技術として、生体外で人工的に再生した臓器と置換する臓器置換再生医療への発展が期待されています。



## 臓器置換再生医療のモデルとしての歯と毛

臓器置換再生医療の実現化を目指すため、私たちの研究室では歯と毛をモデルに人工臓器である“再生歯”ならびに“再生毛”作製の技術を開発しました。図2に、器官原基法を用いて歯と毛を再生させた実施例を示しています。歯の場合、器官原基は歯胚と呼ばれ、上皮と間

葉から構成され、これら二つの細胞がお互いに作用しながら歯を形成します。そこで私たちはマウス胎児より歯胚を取り出し、酵素処理によって歯胚の上皮と間葉の単一化細胞を得た後に、コラーゲンゲル内でこれらの細胞を高細胞密度で区画化して再構築することにより、歯胚を再構成（再生歯胚）しました。この再生歯胚をマウス顎骨に移植すると、再生歯として萌出することが分かりました。再生歯の萌出過程を観察すると、歯胚の発生成長を再現していることが確認され、また自然の歯と同じく周囲の骨と靭帯を介して強固に結合していることが分かりました。さらに緑色蛍光タンパク質（GFP）で標識した再生歯胚を移植するとGFP陽性の再生歯を形成したことから、再生歯は移植した再生歯胚により形成されたことが証明されました。

同様の技術を用いて毛の器官原基である毛包原基を用いて再生毛を作製しました。電子顕微鏡で再生毛を分析すると、自然の毛と同様に中心に毛髄、周囲に毛皮質が確認されました。また再生毛は自然の毛と同様に成長後に抜け、新たに生え変わる毛周期を繰り返すことが観察されるばかりでなく、その周囲には「立毛筋」と呼ばれる筋肉が付いており、自然の毛と同様に寒冷刺激で再生した毛も立つことが判明しました。さらに色素細胞を含めて再生毛包を培養すると黒い毛になること

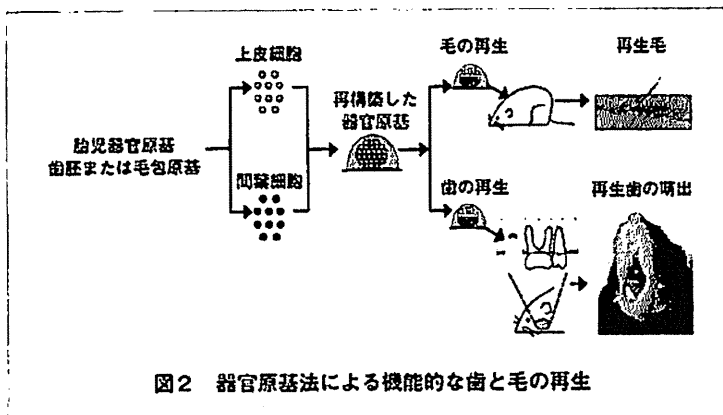


図2 器官原基法による機能的な歯と毛の再生

も分かりました。

このように歯と毛をモデルとした研究成果により、器官原基法を用いれば機能臓器は再生できることが示されました。今後の臓器置換再生医療が実現化するための課題としては、器官原基法による三次元的な細胞操作に加えて、人為的な血管網の作製を含む、器官原基を育成する培養技術開発が必要になります。そのため、わたしたちの研究室では、生体から臓器を摘出し、生体外で培養する技術開発に取り組んでいます。この技術開発は、将来の器官原基育成とともに、移植医療のための臓器を長期間維持する移植医療の基盤技術として発展することが期待されます。

## おわりに

本稿では、器官再生を中心に、私たちが取り組んでいる研究内容の一部を紹介させて頂きました。冒頭でも述べましたように、私たちの研究室では、再生医療技術の開発以外に糖鎖生物学、細胞生物学を中心とした基礎的研究で、再生に必要な生命現象を理解する研究活動も進めております。これらの研究活動を通じて学術的に価値ある成果をあげ、社会に貢献する長期的展望に立った幅広い知識と視野、そして研究開発能力が養われることのできる、次の世代を担う学生へと成長するような人材育成を目指しています。



# 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～



大島 正充<sup>1)</sup>  
齋藤 正寛<sup>2)</sup>  
辻 孝<sup>3)</sup>

◎おおしま まさみつ

●東京理科大学総合研究機構助教，博士（歯学）。2005年岡山大学歯学部卒業，05～09年岡山大学大学院医歯薬学総合研究科博士後期課程，09～11年東京理科大学総合研究機構ポストドクトラル研究員，11年東京理科大学総合研究機構助教。1980年12月生まれ，香川県出身。研究テーマ：次世代の歯科再生医療の臨床実用化に向けての口腔組織や臓器の再生治療技術の開発

◎さいとう まさひろ

●東京理科大学基礎工学部生物工学科准教授，博士（歯学）。1989年神奈川県立歯科大学卒業，04年神奈川県立歯科大学歯科保存学講座講師，06年大阪大学大学院歯学研究科生化学教室講師，09年東京理科大学基礎工学部生物工学科准教授，11年現在に至る。1965年1月生まれ，米国ニューヨーク州ロチェスター出身。研究テーマ：歯および歯周組織の再生医療の実現化に向けての基盤となる分子メカニズムの研究，など

◎つじ たかし

●東京理科大学総合研究機構教授，同大学院基礎工学研究科教授兼務，博士（理学）。株式会社オーガテクノロジーズ所属。1986年新潟大学大学院理学研究科生物学専攻修了，山之内製薬（当時）研究員，日本たばこ産業（株）医薬探索研究所主任研究員等を経て，01年より東京理科大学基礎工学部助教，07年より教授，09年より現職。1962年1月生まれ，岐阜県出身。研究テーマ：21世紀型医療システムである再生医療の実現を目指す臓器再生技術の研究。歯や毛包，唾液腺，涙腺などをモデルとして細胞操作や器官デザイン，三次元的な血管の構築，器官培養の研究

●日歯ホームページメンバーズルーム内「オンデマンド配信サービス」および「Eシステム（会員用研修教材）」に掲載する本論文の写真・図表（の一部）はカラー扱いとなりますのでご参照ください。

## 要 約

口腔機能は，健康や生活の質の維持，向上に重要な役割を果たしている。齲蝕や歯周病などの疾患に対する治療として，人工物による代替治療だけでなく，天然歯が有する生理機能を本質的に回復させる歯科再生治療の研究が進められており，21世紀の新たな治療システムとしての歯科治療へと発展することが期待されている。本稿では，歯科再生医療に関わる技術開発の現状について，組織修復治療と歯をまるごと再生する治療とに分類して解説する。

## 1. 歯科再生治療のコンセプト

咀嚼や発音などの口腔機能は，健康や生活の質の維持，向上に重要な役割を果たしている。歯と歯周組織は，上皮・間葉相互作用によって誘導される歯胚から発生し，象牙質，エナメル質，セメント質や歯槽骨などの硬組織と，歯髄や歯根膜といった軟組織からなる特徴的な構造を有している<sup>1,2)</sup>。そのため多様な疾患が起こりやすく，齲蝕や歯周疾患による歯の実質欠損や喪失は，発音や咀嚼，咬合などの口腔機能に重大な問題を引き起こし，全身の健康状態に影響を及ぼすことが知られている<sup>3)</sup>。

これらの疾患に対する歯科治療として，入れ歯やブリッジ，歯科用インプラントなどを用いた歯の機能代替治療が行われてきた<sup>3)</sup>。これらの人工物による代替治療は機能回復において有効であるとされているものの，骨リモデリングを介した歯の移動能や，侵害刺激

## キーワード

歯科再生治療／再生歯胚／幹細胞

に対する応答能といった機能的咬合系の回復に必要な生理的機能を有していないことが問題とされており、天然歯が有する生理機能の回復を目指した生物学的な歯の治療の技術開発が期待されている。

最近の発生生物学、幹細胞生物学、組織工学的技術の進歩により、次世代を担う再生医療技術の研究開発が進められている。組織や臓器の部分的な損傷に対する治療として、幹細胞移入療法や、組織幹・前駆細胞の活性化と分化を誘導するサイトカインを用いた療法は、歯においても臨床応用が期待される魅力的な治療コンセプトとされている<sup>1)</sup>。またこれまでに歯の発生や分化、それを制御する分子のやり取りについて数多く報告がされており、これらの知見は、将来の歯髄や歯周組織、歯槽骨の再生に向けて応用が期待される(図1)。

再生医療の最終的な目標は、疾患や外傷、加齢に伴う臓器や器官の損傷や障害を、機能的に完全な再生臓器・器官で置き換える臓器置換再生医療であり<sup>2)</sup>、歯科領域においても審美的・生理的・機能的に高いレベルの治療ニーズを満たす新しい治療技術として、近い将来に確立されることが期待されている<sup>3)</sup>。

これまでに、喪失歯に対する機能的な歯の再生治療技術の開発が過去30年にわたって進められてきた<sup>4)</sup>。最近、私たちは歯の喪失部位に再生した歯胚を移植することにより、正常な組織配置と咀嚼機能ばかりでな

く、周囲組織と連携機能する歯根膜機能と中枢と連結した神経機能を有する機能的に完全な歯の再生を達成した<sup>6,7)</sup>。

さらに幹細胞から作製した再生歯だけでなく、歯胚に由来する歯と歯周組織をひとつの機能ユニットとして創り出して移植するという、将来の臓器置換再生医療の実現可能性を示す歯の再生治療のコンセプトも提唱した。

本稿では、歯の組織修復や歯の置換再生治療の実現に向けたこれまでの技術開発についてまとめると共に、私たちの研究成果を中心に最近の進展について解説する。

## 2. 歯の発生

歯や毛、乳腺、腎臓などの器官は、胎児期の局所的な上皮細胞と間葉細胞の相互作用によって誘導される器官原基から発生する。歯は、胎仔期の未分化な上皮・間葉組織の相互作用によって誘導された「歯胚」から発生する(図2)。

歯の発生は、マウスでは胎齢10日目に歯の発生予定領域の上皮細胞が肥厚することで始まり、その後、間葉細胞側に陥入をはじめ、胎齢13日目にはその陥入領域に接する間葉細胞が密集して蕾状期歯胚となる。胎齢14日には、上皮細胞がさらに陥入して間葉細胞を包

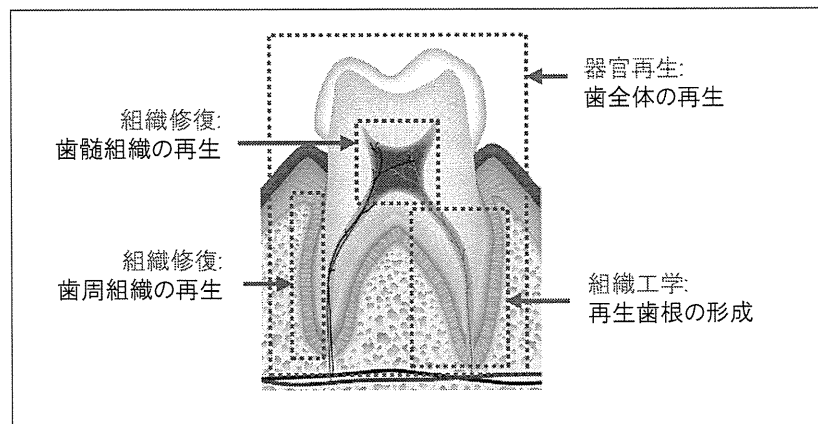


図1 歯科再生治療のコンセプト

歯の組織修復、組織工学による部分的な再生、歯全体の再生による歯科再生治療技術の開発戦略を示す。

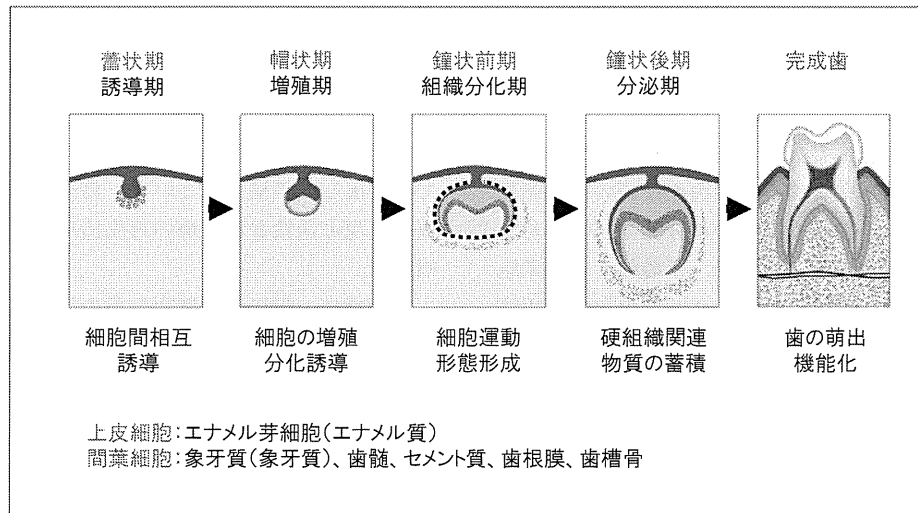


図2 歯の発生過程

歯の発生は口腔上皮の肥厚による間葉細胞側への陥入に始まり、歯原性上皮と歯原生間葉の相互作用により発生する。その後、蕾状期、帽状期および鐘状期の過程を経て、歯原性上皮からエナメル質、歯原生間葉から象牙質、歯髄、セメント質、歯根膜、歯槽骨を形成する。

み込むようになり（帽状期）、胎齢15日には上皮組織と間葉組織それぞれの組織から境界面に向けて、エナメル質と象牙質が分泌されるようになり、硬組織形成が始まる（鐘状後期）。また、歯胚由来間葉細胞から生み出される歯小嚢細胞はセメント質、歯根膜、歯槽骨からなる歯周組織に分化する。

その後、歯は垂直方向に伸長して歯根を形成すると共に、歯根部位では歯根膜などの歯周組織が形成されて歯槽骨と連結され、歯が口腔内に萌出して対合歯と咬合するようになると歯の成長は停止する。歯胚発生が終了した完成歯においても、歯の組織を構成する細胞に分化することが可能な成体組織幹細胞が存在することが知られており、その後の組織修復に寄与すると考えられている。

### 3. 歯組織由来幹細胞やサイトカインによる歯の組織修復治療

これまでに幹細胞研究の進展により、象牙質や歯髄、歯根膜、セメント質、歯槽骨などの形成に寄与する歯組織由来幹細胞の同定が進められ、細胞の分化能

をはじめとする性質が明らかにされつつある。

歯科治療においても、幹細胞を単離し、歯の組織を修復するための細胞移植治療に応用することが歯科再生医療の重要なコンセプトのひとつと考えられている（図3-A）。

#### 1) 象牙質ならびに歯髄再生のための幹細胞による再生治療

歯乳頭から発生する歯髄は象牙質内部の結合組織成分であり、血管や神経、線維芽細胞、象牙芽細胞が存在する。その歯髄組織の中から、歯髄幹細胞と乳歯幹細胞が同定され、高い増殖能と象牙芽細胞や脂肪細胞、神経細胞への多分化能を有する歯の組織幹細胞であることが報告されている<sup>8~10)</sup>。また、歯根形成途中の根尖部位に存在する根尖部歯乳頭組織にも根尖部歯乳頭幹細胞と呼ばれる幹細胞が存在し、高い未分化性の維持能力と旺盛な増殖能を有すると共に、象牙芽細胞や歯髄細胞への分化能を有する<sup>10)</sup>。

罹患率の最も高い歯科疾患である齲蝕に対する治療として、一般的に人工材料による修復治療が行われている。歯科再生医療では、これらの組織幹細胞を齲蝕

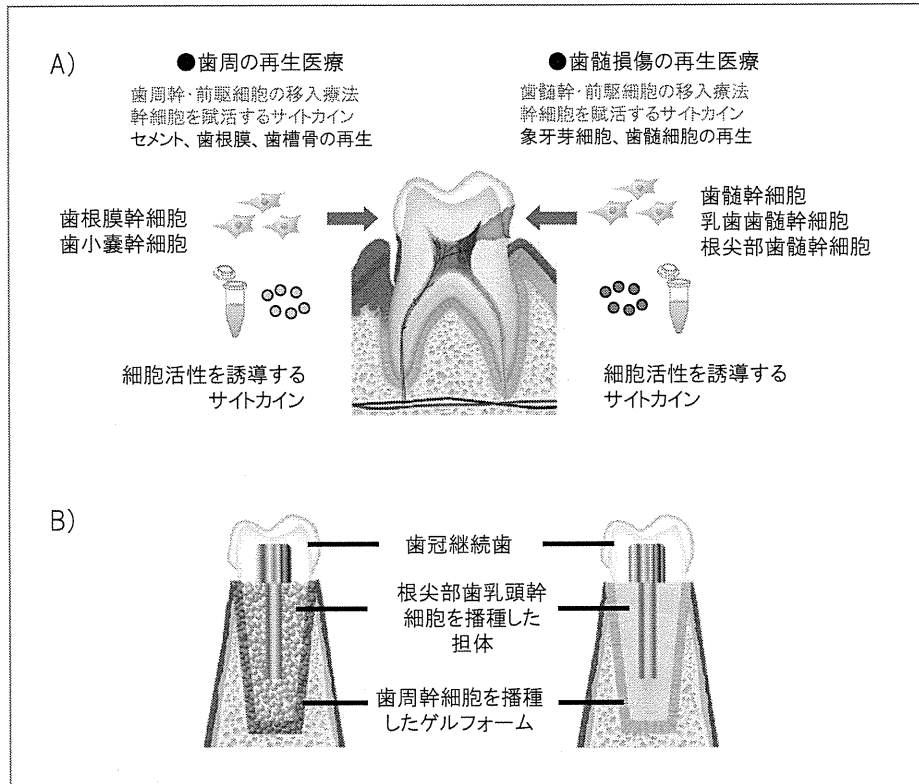


図3 歯の組織修復と組織工学（歯髄損傷、歯周疾患に対する歯の組織修復療法）

- A) 齶蝕や歯周疾患による組織傷害を修復するアプローチとして、歯組織由来の幹細胞を移入する治療法と、細胞活性を誘導するサイトカイン療法が開発されている。
- B) 組織工学による歯根の再生に向けて、歯根の形に成型したハイドロキシアパタイトの担体に歯髄幹細胞を播種し、その上から歯周幹細胞を含むゲルフォームを巻きつけ、そこへ歯冠継続歯を装着する。この再生歯根は、歯槽骨内へ移植することによって再生歯根の周囲に象牙質と歯根膜を再生し、正常な歯の機能を果たすことが期待される。

部位に移入することで、象牙質や歯髄の組織修復を行うことを目指している（図3-A）。また最近では、組織に存在する幹細胞の賦活化による歯髄再生を目的として、歯髄幹細胞の増殖や、象牙芽細胞、歯髄細胞への分化を誘導するサイトカインによる治療技術の開発も進められている（図3-A）。

## 2) 歯周組織再生のための歯周組織および歯小嚢に由来する幹細胞による再生治療

セメント質、歯根膜、歯槽骨からなる歯周組織は、咬合力を緩衝する結合組織である。歯周組織は歯周炎による長期間の炎症反応により、自然治癒不可能な損

傷を受ける場合が多く、失われた歯周組織を再生する確実な治療技術は未だ確立されていないことから、組織再生が可能な幹細胞移入療法やサイトカインの応用が期待されている。

歯周組織を構成する細胞に分化可能な幹細胞としては、歯根表面に存在する歯小嚢幹細胞や、成人の歯周組織に存在する歯根膜幹細胞が知られており、歯周組織再生治療のための細胞シーズとして期待されている<sup>14)</sup>。

これらの幹細胞移入療法に加えて、歯根膜細胞シート<sup>15)</sup>の技術開発や、歯周組織の再生を促進するためのサイトカイン療法<sup>16)</sup>の開発も進められており、歯周組織再

生の新たなアプローチになることが期待される (図3-A)。

### 3) 幹細胞と組織工学技術による再生歯根の形成

最近、歯の喪失に対するブリッジや入れ歯による歯科治療に代わって、歯槽骨に直接埋入する歯科用インプラントが有効な治療技術として急速に広まっている。歯科用インプラントの有用性は確立されているものの、インプラントには歯根膜機能が存在しないため、加齢成長に伴う歯の移動が起こらないという問題点が指摘されている。そのため、歯の生理的機能も回復させる治療法として、幹細胞を組織工学的に利用した歯根再生が進められている (図3-B)。

歯根の形態に成型したハイドロキシアパタイト (HA/TCP) の担体に根尖部歯乳頭幹細胞を播種し、その上から歯根膜幹細胞を播種したゲルフォームを巻きつけることによって歯根様構造物を形成し、その上に人工的な歯冠継続歯を装着することによって、歯の生理的機能が回復することが報告されている<sup>10)</sup>。この組織工学的手法は、歯根と歯周組織を結合させることで生理的かつ機能的な歯根を再生する方法であり、幹細胞による組織再生技術と、現在の人工材料による補綴治療を統合した再生医療技術の一つになることが期待される。

## 4. 臓器置換再生医療としての歯の再生

幹細胞移入療法により、部分的な組織修復の可能性は示されているものの、現在の再生工学技術では、高度に複雑化した臓器・器官を再構築するという最終目標には到達していない。これまでに、機能不全に陥った臓器・器官を機能的な代替臓器・器官と置換する技術開発が数多く試みられてきており、機械製の人工臓器や、細胞と人工材料を用いたハイブリッド型人工臓器の研究開発が進められてきた。

さらに、歯や毛のような外胚葉性器官の再生では、未分化な幹細胞から三次元的な細胞操作によって再生器官原基を作製し、上皮・間葉相互作用による胎児期

の器官形成を再現させることによって、機能的に完全な再生器官を発生させるアプローチが考えられている<sup>11)</sup>。歯をまるごと再生する治療技術の開発では、上皮細胞と間葉細胞を用いて再生歯胚を再生する三次元的な細胞操作技術が進められている。

### 1) 生分解性スキャホールドを用いた歯胚の再生

天然材料ならびに人工ポリマーで作製した分解性のスキャフォールドを用いる方法では、任意の形態を有する組織を再生することが可能である。この技術は、均一な細胞配置を有する三次元的組織を形成する技術として高い有効性が示されており、骨や軟骨の再生治療に向けた臨床応用化が進められている。これまでに、歯の形に成型した人工材料にブタ第三大白歯、またはラット齶状期歯胚の上皮細胞と間葉細胞を播種することによって、小さな歯組織を形成できることが報告されている<sup>12)</sup>。

このようにスキャフォールド法は、再生歯の形や大きさの制御に有望な技術であるものの、歯の発生頻度が低く、天然歯と同等の組織構造を有する再生歯を形成させることが困難とされてきた。

### 2) 細胞凝集法を用いた再生歯胚の形成

細胞凝集法は、器官原基を再構築することによって、器官形成における上皮・間葉相互作用を再現する再生工学的手法のひとつである<sup>13)</sup>。これまでに遠心分離により上皮細胞と間葉細胞を沈殿させ、貼り合わせた人為的な歯胚から、完全な歯の形成が可能であること、さらに臼歯歯胚から単離した上皮細胞と間葉細胞を混合した細胞凝集体からも、正常な組織構造を有する歯が形成されることが報告されている<sup>14)</sup>。

私たちは、新しい技術として、高細胞密度の上皮細胞と間葉細胞を三次元的な細胞操作技術により区画化して再配置する「器官原基法」を開発した<sup>15)</sup> (図4-A)。この方法により再生された歯胚は、高頻度に、組織構造を有する歯を再生するばかりでなく (図4-B)、毛包の再生にも応用可能な、幅広い器官再生の研究に道を拓いた (図4-C)。

さらに本技術において、上皮細胞と間葉細胞の接触

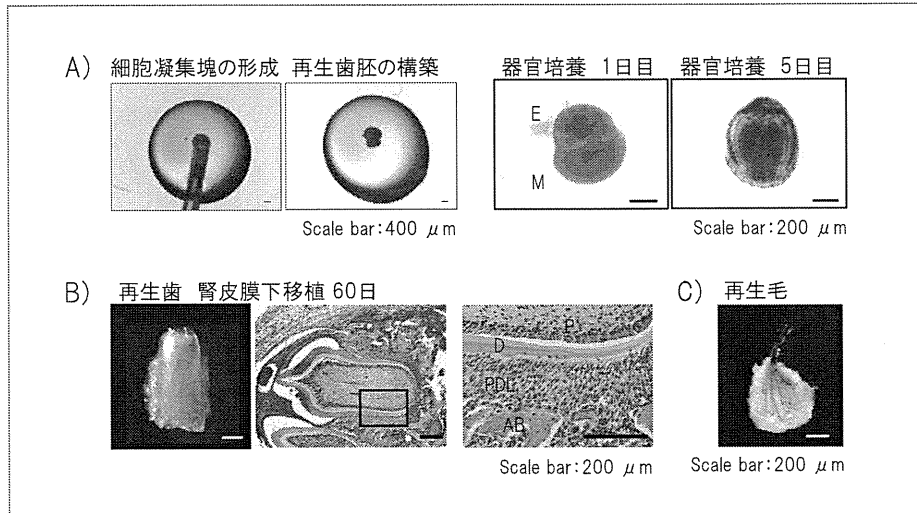


図4 器官原基法による再生歯胚の作製

- A) 器官原基法による再生歯胚の作製と器官培養像。  
E：上皮細胞凝集塊，M：間葉細胞凝集塊。
- B) 再生歯胚を腎皮膜下に移植することにより発生した再生歯の実体像（左図）と組織像（中図，右図）。P：歯髄，D：象牙質，PDL：歯根膜，AB：歯槽骨。
- C) 器官原基法により作製した毛包原基から作製した再生毛。

面積を調節することによって，歯の太さと咬頭の数を制御することを可能とし，従来技術と比較して技術レベルの高い細胞操作技術であることを示した<sup>12)</sup>（図5）。

## 5. 成体内における機能的な歯の再生

将来の実用化に向けた歯の再生治療を考えると，再生した歯が組織学的に正常であることだけでなく，レシピエントの周囲環境や神経系と連携機能することにより，喪失した機能を完全に補うことが期待されている。歯科再生治療としては，再生歯胚を歯の喪失部位に移植をして萌出，機能させる方法と（図6 - 上段），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，口腔内に移植，生着させる方法とが考えられる（図6 - 下段）。

咀嚼や発音，審美性といった口腔機能は，歯や咀嚼筋，顎関節が中枢神経系の制御下において協調して機能することにより成立している（図7）。このことから再生歯においても，顎顔面領域における咬合機能

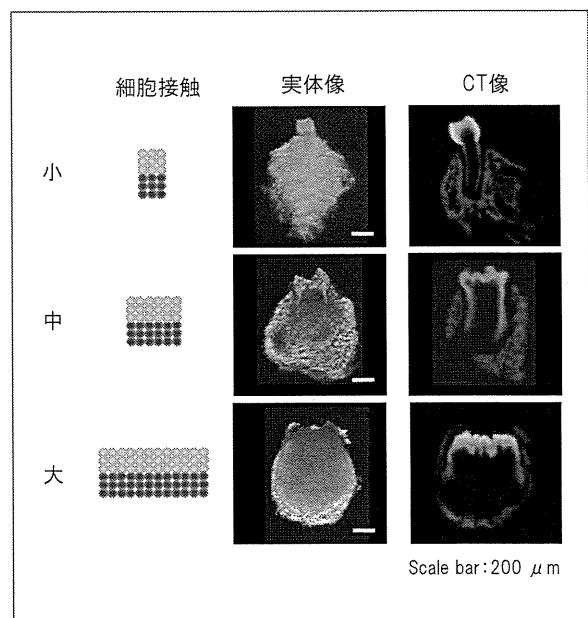


図5 細胞の接触距離における歯冠幅と咬頭数の解析

器官原基法による歯胚再構成において，上皮細胞と間葉細胞の接触距離を変えることにより，形成される再生歯の歯冠幅が拡大し，形成される咬頭数が増加している。



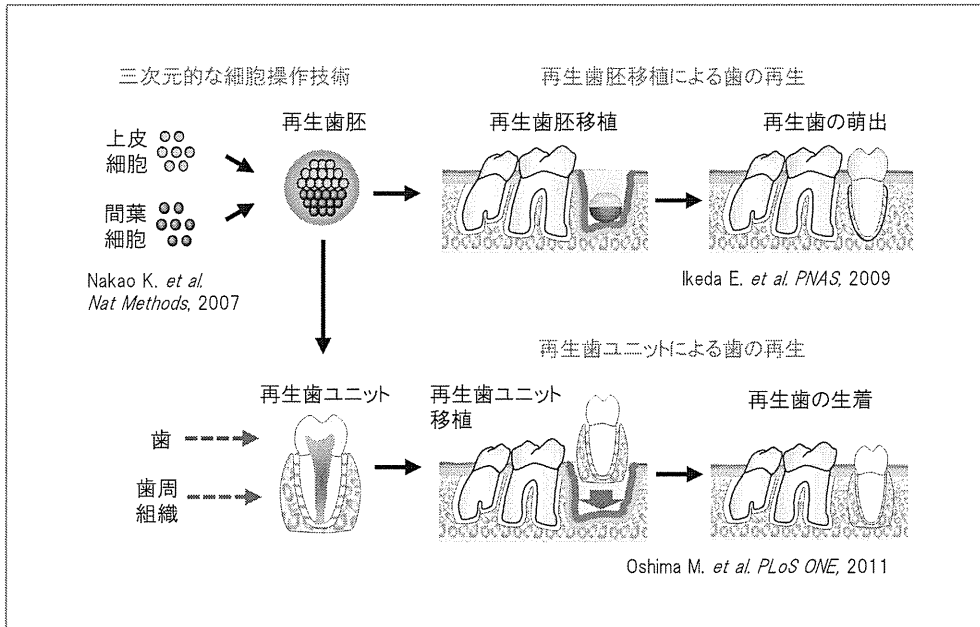


図6 再生歯胚を用いた歯の再生戦略

器官原基法によって上皮細胞と間葉細胞を再構築して作製した再生歯胚，ならびに再生歯胚から完成した歯の構造体として作製した再生歯ユニットを移植することによって，成体内で歯を再生する戦略が考えられる。

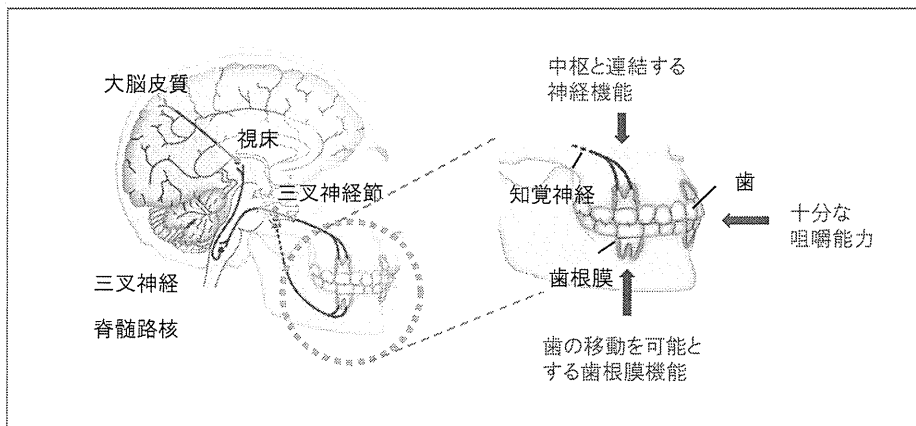


図7 顎顔面領域における口腔機能の調和

咀嚼や発音，審美性などの口腔機能は，咀嚼筋と顎関節が中枢神経系によって制御されることにより協調的に機能する。歯には対合歯との咬合における十分な咀嚼機能，顎顔面領域の組織と共に機械的外力と侵害刺激に対して応答する歯根膜機能，さらには歯に対する侵害刺激を歯髄や歯根膜の知覚神経が受容し，三叉神経脊髄路核へ刺激を伝達する神経機能を有している。

や、機械的外力に応答する歯根膜機能、侵害刺激の伝達が可能の中樞と連結した神経機能を有する、機能的に完全な歯を再生することが望まれている。

### 1) 再生歯胚移植による歯の再生 —再生歯の萌出と咬合—

歯の喪失部位に移植した再生歯胚が、成体顎骨内で発生して萌出して対合歯と咬合することは、歯科再生医療に向けた重要な課題のひとつである。

私たちは、再生歯胚による歯の再生を解析するため、まずマウスの歯欠損に対する再生歯胚移植モデルを構築した<sup>7)</sup>。マウス第一臼歯を抜歯し、3週間かけ

て抜歯窩を治癒させた後、ドリルを用いて欠損部歯槽骨に移植窩を形成して再生歯胚を移植した。移植後37日目には、約80%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(図8-A)。

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、生理的に移動しながら咬頭(歯の咬合面の突起)が対合歯の小窩とかみ合って、天然歯と同様に咬頭嵌合を確立することが判明した(図8-B, C)。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(図8-D)。さらに緑色蛍光タンパク質(GFP)を発現

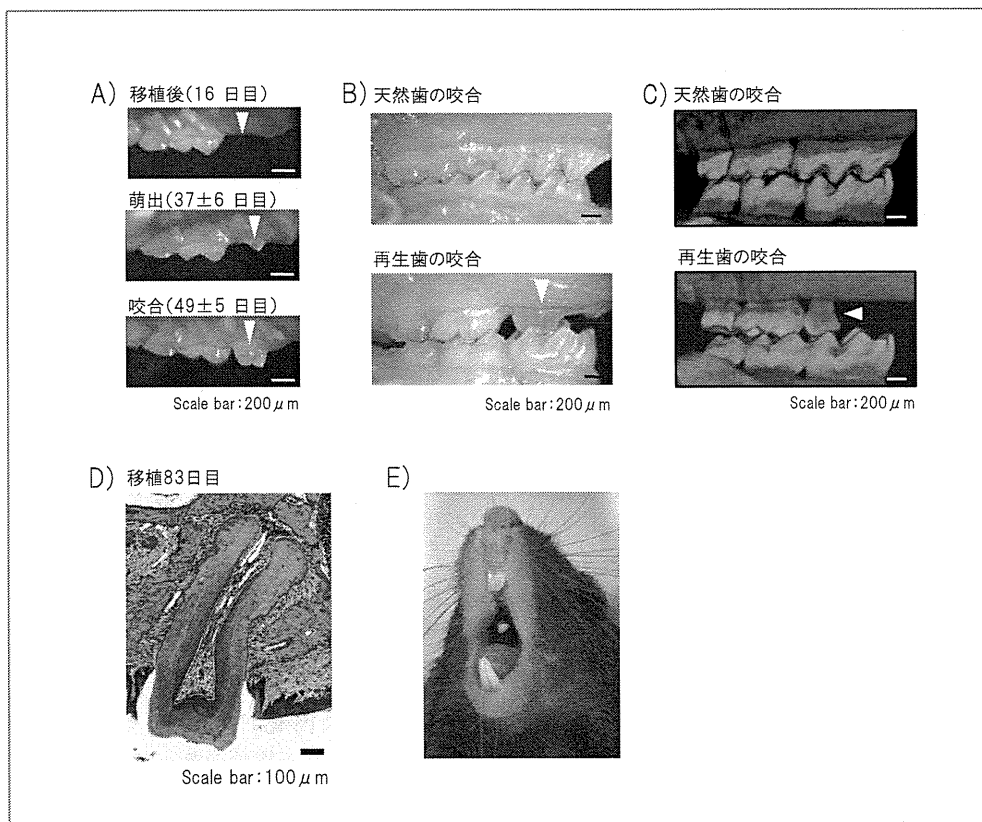


図8 成体マウス口腔内で発生・萌出した再生歯

- A) 再生歯胚移植後の再生歯の萌出と成長過程(矢頭:再生歯)。
- B) 天然歯(上図)および再生歯(下図, 矢頭:再生歯)における咬合状態の口腔内写真。
- C) 天然歯(上図)および再生歯(下図, 矢頭:再生歯)における咬合状態のCT像。
- D) 口腔内に萌出した再生歯の組織像。
- E) GFP 標識された再生歯の口腔内写真。

しているマウスに由来する再生歯胚の移植実験から、再生歯胚由来の細胞により歯が再生し、萌出したことが証明された(図8-E)。

このことから、再生歯胚を移植することによって成体口腔内に再生歯が萌出し、天然歯と同等の咀嚼機能を回復させる可能性が示された<sup>7)</sup>。

## 2) 再生歯ユニット移植による歯の再生 —再生歯の顎骨生着と咬合—

器官原基移植による治療では成熟器官への発育、機能化には期間が必要である。機能不全の臓器に対する移植治療では、即時・早期の機能化が要求されることから、臓器置換再生医療をより実現可能なものとするには、再生した器官原基から成熟器官にまで成長させた再生器官を移植して、即時・早期に機能させることであると考えられる。そのため、歯科再生治療における理想的な治療技術は、完成された再生歯を移植してインプラントや自家歯牙移植のように即時利用を可能とすることである。

歯は、歯とそれを支持する歯根膜や歯槽骨を含めてひとつの機能ユニットとしてみなすことができ、これらの組織はすべて歯胚から発生・分化することが知られている<sup>8)</sup>。最近、私たちは、再生歯胚から歯と、歯の周囲に歯根膜・歯槽骨を伴う1本ならびに複数本の再生歯ユニットをつくりだすことに成功した。再生歯ユニットはひとつの歯槽骨の中、1本から複数本の再生歯を創ることが可能である(図9-A, B)。この再生歯ユニットを対合歯と咬合関係を成立させて移植をすると、移植40日目には再生歯周囲の歯槽骨の結合が認められ、再生歯ユニットが骨性結合を介してレシピエント歯槽骨に生着し、機能することが示された(図10-A, B)。

一方、歯の喪失部位では歯槽骨の吸収が起こり、インプラントや自家歯牙移植などの移植治療が困難になることが知られている。このような症例では、自家骨移植や骨補填材による骨再生療法後にインプラントを移植する治療が取り組まれているものの、より骨再生効果が高い治療技術の開発が期待されている。

私たちは、再生歯ユニットが歯槽骨を有して骨欠損部位に移植できることから、歯のみならず歯槽骨を含

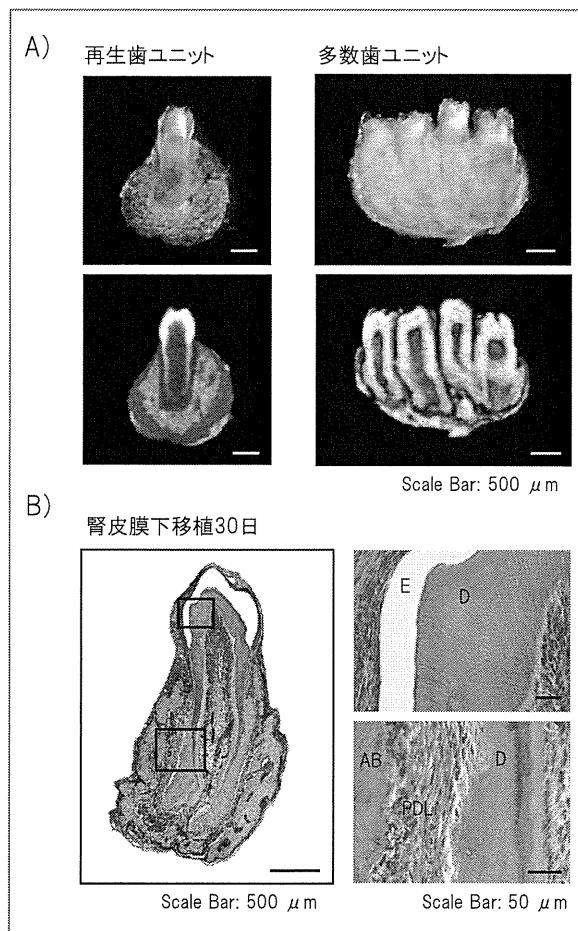


図9 再生歯ユニットの作製

- A) 再生歯胚から作製した再生歯ユニット(左図)と、複数の再生歯胚から作製した多数歯ユニット(右図)の実態像(上段)とCT断層像(下図)。  
B) 再生歯ユニットの組織像(左図:全体像, 右図:拡大像)。E:エナメル質, D:象牙質, AB:歯槽骨, PDL:歯根膜。

めた包括的な再生が可能であると考え、研究を行った。成体マウス下顎骨の第一臼歯を抜歯し、歯槽骨を取り除いた広範性骨欠損モデル(図10-C)に再生歯ユニットを移植すると、再生歯が生着すると共に、垂直的な歯槽骨の再生が認められた(図10-D)。

このことから、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する歯科再生治療になる可能性が示された<sup>13)</sup>。

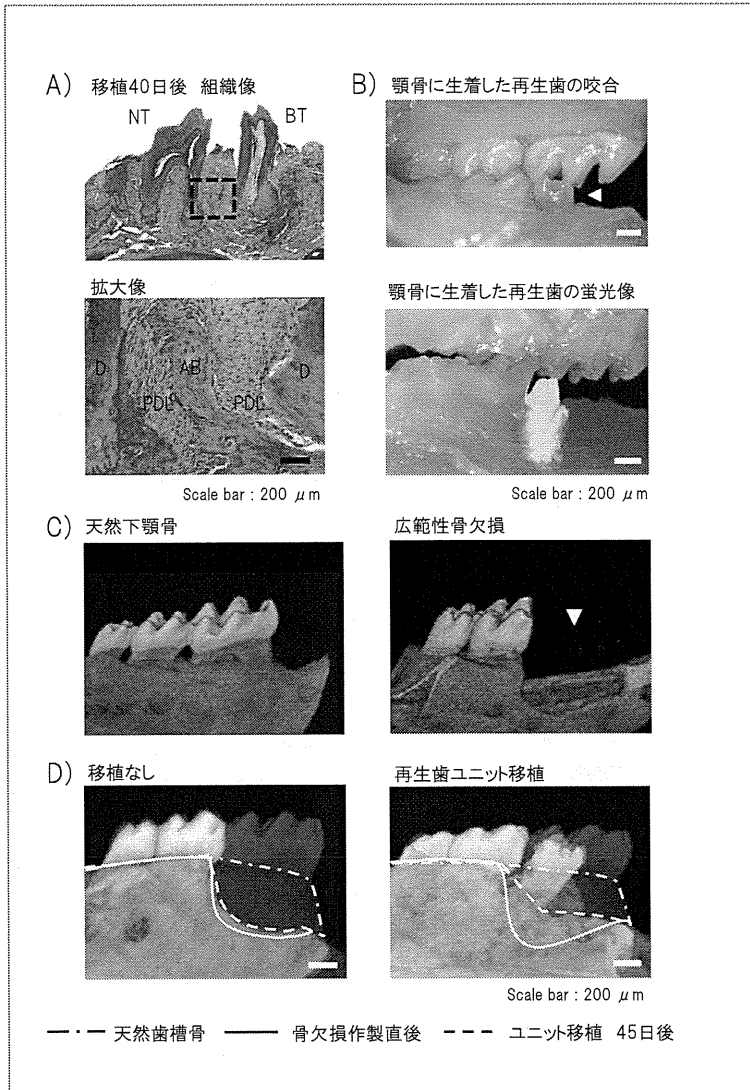


図10 再生歯ユニットの生着と歯槽骨回復効果  
 A) 移植40日後の顎骨に生着した再生歯ユニットの組織像。  
 NT: 天然歯, BT: 再生歯, D: 象牙質, AB: 歯槽骨,  
 PDL: 歯根膜。  
 B) 顎骨に骨性結合をした再生歯ユニット (上図) と蛍光色素を沈着させた再生歯の蛍光画像 (下図)。  
 C) 成体マウスの天然下顎骨 (左図) と, 広範性骨欠損モデル (右図, 矢頭: 欠損部)。  
 D) 広範性骨欠損モデルに再生歯を移植して45日後のCT像の重ね合わせ。正常な歯槽骨レベル (一点鎖線: - · - · -), 広範性骨欠損モデル作成時の骨レベル (実線: ———), 再生歯ユニットの非移植群, 移植群の骨の回復レベル (点線: - - - - -)。

### 3) 再生歯の機械的外力への応答

歯根膜は, 過剰な機械的外力に対する緩衝能を有するばかりでなく, 歯科矯正治療における歯槽骨のリモデリングを介した歯の移動において重要な役割を果たすことが知られている (図11 - A)。そこで, 再生歯胚移植によって萌出した再生歯に実験的矯正を加えると矯正6日目には歯周囲の歯根膜の形態が変化すると共に, 牽引側では骨形成が起こり, 逆に圧迫側では骨吸収が認められ, 矯正17日目には再生歯が天然歯と同様に移動することが判明した (図11 - B)。また, 再生歯ユニット移植によって生着した再生歯によっても同様の結果が認められた。

これらのことから, 再生歯は顎顔面領域の連携機能を修復することにより, 歯根膜を介した歯の生理的機能を再生することが示された<sup>7,13)</sup>。

### 4) 再生歯の知覚神経機能

末梢神経系は, 胎児期において発生している器官からの誘引と中枢神経との連結によって確立され, 臓器機能の発現制御や侵害刺激の中枢への伝達に重要な役割を果たすことが知られている。歯には知覚性の三叉神経が侵入しており, 歯の正常な機能発現と保護に重要であることから, 知覚性の神経機能を回復させる歯科再生治療が期待されている。

最近, 私たちは再生歯胚を移植することにより, 萌出した再生歯の歯髓と歯根膜に交感神経や知覚神経などの神経線維が侵入していることを明らかにすると共に (図12), それらが正常に侵害刺激を受容して中枢神経系に伝達することを実証した<sup>7)</sup>。さらに完成歯である再生歯ユニット移植においても