

厚生科学研究費補助金（再生医療実用化研究事業）

総括研究報告書

自己骨髄間質細胞を用いた歯槽骨再生医療の臨床研究

研究代表者 各務 秀明 東京大学医科学研究所 特任准教授

研究要旨

本事業では、自己骨髄間質細胞を用いた新たな歯槽骨再生治療法の安全性と有効性のエビデンス創出し、薬事法下での実用化を目指した第 相/第 a 相臨床研究を実施する。特に先行する臨床研究によって得られた課題について検討し、実用化に向けて改良された細胞調製法による歯槽骨再生の効果を、先行する臨床試験の結果と比較する。平成 25 年度には 7 名のエントリーが承認され、第 1 相として予定された 15 例全例のエントリーが終了した。また、新たに承認された 8 例への培養骨移植を行い、平成 25 年度中に第 相 15 例への細胞移植が終了した。これまでに第 相 15 例の骨生検とインプラント埋入を行ない、全例で骨再生を確認している。細胞移植に関連が疑われる有害事象は発生しておらず、治療の安全性が示唆された。非脱灰標本を用いた骨占有率の評価では、標本作製が終了した 11 例の平均は 45%であった。これは比較対象である先行臨床研究と比較して同等以上である。また、本臨床研究の課題の一つである個体差については、細胞増殖、骨占有率ともに大幅な改善を認めた。

分担研究者

長村登紀子 東京大学医科学研究所

輸血・細胞治療学 講師

東條 有伸 東京大学医科学研究所

血液内科学 教授

インプラントの埋入が困難な患者が少なくない。歯槽骨再生治療の対象となる患者は、国内だけでも年間 7 - 10 万人と推定されている。歯科領域での骨欠損は小さく形態が複雑であるために、複雑な形態の骨欠損に適合する顆粒状などの担体を用いる必要がある。しかしながら、顆粒状の担体と細胞の組み合わせによる骨再生の条件については十分に最適化されておらず、また先行臨床研究で問題となった細胞の個体差の影響を解決する方法についても知られていない。

これまで行ってきた歯槽骨再生の臨床研究の結果からは一定の有効性が示されたものの、細胞には個体差が大きく、安定した骨再生の障害となる可能性も明らかとなった。自己細胞を用いた歯槽骨再生治療は、自家骨移植と比べ遥かに低侵襲ではあるが、自家骨移植と同等の有効性、効果の安定性が期待できなければ、医療としての定着は

A. 研究目的

自己骨髄間質細胞を用いた新たな歯槽骨再生治療法の安全性と有効性のエビデンス創出し、薬事法下での実用化を目指した第 相/第 a 相臨床研究を実施する。特に先行する臨床研究によって得られた課題について検討し、実用化に向けて改良された細胞調製法による歯槽骨再生の効果を先行する臨床試験の結果と比較する。

近年歯科用インプラントは長期的に安定した予後が得られるようになり、普及しつつある。しかしながら、実際にインプラントを必要とする患者では、骨量が不足して

難しい。

われわれは、骨再生効果の不安定性解消のため、ヒト骨髄間質細胞の個体差とその解消法について検討を行った。その結果、細胞培養条件、顆粒状担体への播種方法、分化誘導法の最適化を行うことで、個体差や年齢に影響を受けにくい骨再生が可能であることを見出した。さらに、骨再生を予測するための複数の指標を明らかにし、その結果を品質管理に導入した。

細胞を用いた骨再生治療法の効果は、骨の再生量が多いほど細胞の個体差の影響を受けやすいことが示唆されている (Meijar et al., 2008)。本臨床研究の対象症例は重度歯槽骨萎縮症であるため、われわれが新たに開発した骨再生法に最適な症例であると考え。本臨床研究で新プロトコルによる歯槽骨再生治療の有効性と安全性を確認するとともに、早期に先進医療への移行を目指す。

B. 研究方法

1. 研究体制

本研究は、東京大学医科学研究所における臨床研究体制、TRコーディネーターを含む人員を活用して実施される。細胞培養は本研究所臨床細胞工学室で行う。臨床試験は、本研究所附属病院において臨床試験監視グループの管理下で、臨床試験支援チームの支援を受けて実施される。

また、本臨床試験のために本研究所を中心に、東京医科歯科大、横浜市立大、松本歯科大学、およびインプラント専門医とのネットワークを形成しており、患者紹介を受けて実施される。

東京大学医科学研究所

臨床試験実施チーム

- ・組織工学研究グループ、骨再生診療科
骨再生臨床試験の実施
各務秀明（研究代表者、研究総括）
井上実（分担歯科医師）

- ・細胞リソースセンター、セルプロセス
シング

CPCの管理運営

長村登紀子（研究分担者）

- ・血液腫瘍内科

内科的診療および骨髄穿刺

東條有伸（研究分担者）

内丸 薫（研究分担者）

湯地 晃一郎（研究分担者）

大野信広（研究分担者）

- ・手術部

手術時麻酔管理

鎮西美栄子（研究協力者）

臨床試験監視チーム

- ・医療安全管理部

臨床試験監視、臨床試験の安全管理

長村文孝

臨床試験支援チーム

- ・TR コーディネーター

河野美那子（研究協力者）

大和田理代（研究協力者）

藤原紀子（研究協力者）

- ・臨床検査部、TR検証室

品質管理（無菌検査等）

磯尾直之（研究協力者）

- ・研究倫理支援室

臨床試験の倫理的問題への対応

武藤香織

- ・医療統計専門家

統計解析に関する助言と協力

大橋 靖雄（研究協力者）
飯室 聡（研究協力者）
田栗 正隆（研究協力者）
他施設における協力者
長崎大学
培養技術の助言、手術への協力
朝日奈泉（研究協力者）
東京医科歯科大学
口腔外科的診療への協力、患者紹介
春日井昇平（研究協力者）
横浜市立大学
口腔外科的診療への協力、患者紹介
藤内祝（研究協力者）

2. 研究計画

全体計画

本臨床研究については平成22年9月28日に学内「ヒト幹細胞臨床研究審査委員会」にて承認を受け、平成23年3月15日に厚生労働省より承認を得た。被験者の募集は厚生労働省の承認から6年間、経過観察は細胞移植後2年間である。

臨床試験の概要

Rational：歯槽骨萎縮症患者を対象として顆粒状の担体に対して最適化された自家骨髄間質細胞の培養、分化誘導条件を用いて、移植材料（以下「培養骨」）の安全性と歯槽骨再生能を評価する。従来自家骨移植が必要とされた患者に対して、インプラントの埋入に必要な歯槽骨を再生し、最終的にはインプラント義歯による治療を可能にする。第Ⅰ相臨床研究における主要エンドポイントは安全性、副次エンドポイントは骨生検における骨形態計測量、第Ⅱ相臨床研究における主要エンドポイントは骨生検に

おける骨形態計測量、副次エンドポイントは、安全性、頭部CT撮影画像から得られた骨形成量、インプラントのオッセオインテグレーション、インプラントの脱落とする。

細胞調製法：第Ⅰ相/第Ⅱ相臨床研究

移植5週前に培養用血清のための末梢血採血及び骨髄血採取し、最適化された条件にて骨髄間質細胞の培養をする。継代の後、β-TCP顆粒上に細胞を播種し、翌日よりデキサメタゾン、βグリセロリン酸、アスコルビン酸による分化誘導を開始する。2週間分化誘導を行った後で骨欠損部に移植する。

安全性評価：本培養法による細胞の安全性については、ボランティア由来の細胞を用いた核型試験により染色体異常を起こさないこと、免疫不全動物への移植により造腫瘍性を持たないことが示されている。また、連続した3回のプロセスバリデーション試験により作業全体の無菌性を確認済みである。

対象：上顎あるいは下顎歯列に連続した2歯以上の欠損を認め、ブリッジによる補綴処置によって機能回復が望めないもの。可撤式義歯（いわゆる入れ歯）ではなくデンタルインプラントを用いた補綴処置を希望するもの。さらにデンタルインプラント埋入のための十分な骨量が存在せず、歯槽頂の幅径が5mm未満、あるいは歯槽骨高径が5mm未満で骨移植を必要とするものとする。

研究期間：登録期間は承認より4年間、追跡

期間は細胞移植より2年間とする。

目標症例数：第 相（15例）、第 a相として10例を含む25例で評価。

評価方法：

1) 安全性評価

・本臨床研究期間中に発現した有害事象の種類別の有無。

2) 効果評価

・骨生検における骨形態計測量（移植後16週後）

測定方法：骨生検で得られた組織から非脱灰標本を作製しVillanueva-Goldner染色を施した後、任意の10視野における単位面積あたりの新生骨面積、残留 TCP面積、骨髓腔面積、線繊維性結合組織面積を算定したものを平均し、それぞれ新生骨量、残留 TCP量、骨髓腔量、線繊維性結合組織量とする。

・頭部CT撮影画像から得られた骨形成量（移植後3か月、6か月、12か月、24か月）

測定方法：骨量解析ソフトを用いてCTデータを解析し、培養骨移植部の新生骨体積を測定して、骨形成量とする。また、インプラント埋入予定部位の骨高径を計測する。

・インプラントのオッセオインテグレーション

2次手術時にインプラント骨へのインテグレーションを確認し、インテグレーションが得られていないインプラント数を記録する。

・インプラントの脱落

オッセオインテグレーションが得られたインプラントについて、細胞移植後2年まで

の経過観察期間中に見られたインプラントの脱落数について記録する。

臨床的課題に対する基礎的検討

骨再生については、細胞の種差による問題からヒト細胞を用いた実験が必須である。しかしながら、そのためには免疫不全動物の使用が不可欠であり、炎症や免疫による骨再生への影響を検討することが困難であった。臨床では移植手術による炎症や免疫系細胞の骨再生への影響が考えられ、個体差の原因の一つとなっている可能性がある。ヒトにおける骨再生のメカニズムの詳細を理解するために、われわれは、免疫不全および免疫正常マウスを用いた骨再生モデルの確立を行なった。

自己骨髓由来培養骨芽細胞様細胞を用いた歯槽骨再生法の長期経過の検討

平成16年から平成21年まで、当院にて自己骨髓由来培養骨芽細胞様細胞を用いた歯槽骨再生法の臨床研究が行われたが、研究期間は細胞移植後2年となっており、その後の長期経過については検討されていない。骨再生治療を確立するためには、再生した骨の長期経過を理解することが重要である。特に、再生された骨の量的変化、周囲骨との関係など、自家骨移植や人工骨のみによる再生との比較を行うことで、自己骨髓細胞由来細胞を用いた骨再生研究の有用性が明らかになると考えられる。

平成16年より平成21年の間に当院で歯槽骨再生の臨床研究に参加され、細胞移植を行った8名のうち、本研究への参加に同意された方とした。参加者への連絡は、医科学研究所内に保管されている連絡先を使用した。連絡がつかない場合は、インプ

ラント上部構造を担当した紹介先医療機関へ依頼し、診察時に本研究への協力の可否を尋ねていただき、協力可能と回答された被験者に対しては連絡先をご提供いただき、直接担当者より連絡することとした。なお、協力が得られない場合、および協力先医療機関への受診もない場合には、本研究の対象には含めない。

・検査項目

- 1) 全身状態の問診
- 2) 培養骨移植部位をパノラレントゲン撮影
- 3) 培養骨移植部を中心にCT撮影を行う。
- 4) 頭部MRI撮影を行う。

・検査実施時期

臨床研究終了から5年以上経過後に行う。

・検討項目

安全性

治療後の全身状態の異常（臨床研究に関連するかどうかは問はない）を記載する。細胞移植後の局所の異常があれば、記載する

パノラレントゲン、デンタルレントゲンおよびCTによる骨計測

骨移植部位の骨、特にインプラント周囲骨の状態について確認を行うとともに形態計測を行い、臨床研究中のデータと比較検討を行う。さらに、専用のソフトウェアを用いて、反対側や周囲の正常骨と骨梁パターンの比較を行うことで、その相同性について検討を行う。

CTによる骨量計測

骨量解析ソフトを用いてCTデータを解析し、培養骨移植部の新生骨体積を測定して、骨形成量とする。先行臨床研究時のデ

ータと比較して、長期経過中の骨量の変化を調べる。特にインプラント周囲や部位別の骨量の変化を計測する。

MRIによる骨質評価

MRI画像により、再生骨および既存骨との骨質に関する比較検討を行う。

ペースメーカーを使用されている場合は金属埋め込みを行っているなど、MRI撮影が禁忌とされている被験者に対しては問診にて確認し、MRI撮影は行わない。

（倫理面への配慮）

本臨床研究は、臨床研究に関する倫理指針、ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針を遵守し、被験者の尊厳と人権を尊重し、被験者の不利益が利益を越えることがないように十分に配慮して実施される。特に、被験者に危険が及ぶことのないよう、被験者骨髓細胞の採取、骨髓間質細胞を高品質に維持するように努め、骨髓間質細胞の移植には細心の注意をはらう。

また、被験者には、事前に、TRコーディネーターの同席のもとで、研究責任者又は研究分担者から、本研究の意義、目的、方法、予期される危険、いつでも同意を撤回できること等を平易な用語で説明し、自由意志に基づいて被験者となることを、文書により同意を受ける。

被験者の個人情報、個人情報管理者を置き、鍵のかかるロッカー等で厳重に保管される。

ヒト細胞を用いた実験については、東京大学医科学研究所倫理委員会にて承認を得て行う。本研究はヘルシンキ宣言を遵守し、ボランティアからはインフォームドコンセントを取得した後に組織の採取を行う。

購入した骨髄については対象外であるが、骨髄間質細胞を用いた歯槽骨再生法に関する基礎的研究については、東京大学医科学研究所倫理委員会およびヒトゲノム倫理委員会における承認を得ている。

動物実験については学内の規定に基づいて行い、プロトコルは動物実験倫理委員会で承認を得て行う。

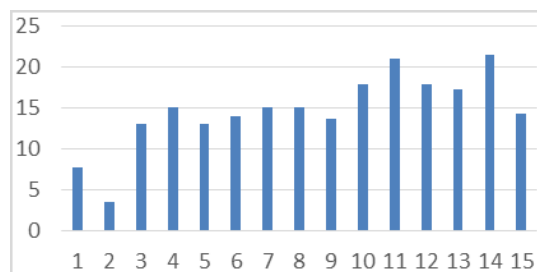
C. 研究結果

1. 臨床研究実施経過

本臨床研究については平成22年9月28日に学内「ヒト幹細胞臨床研究審査委員会」にて承認を受け、平成22年10月1日に厚生労働省へ申請が行われた。平成23年3月15日厚生労働大臣の承認を得た。平成23年4月に修正プロトコルに対する学内承認後、テストランを施行。細胞調製および品質管理にかかわる人材を新たに雇用し、細胞調製施設の維持管理、細胞調製、評価に関するトレーニングを実施後、臨床研究を開始した。

第1相臨床研究として、口腔状態、歯槽骨の残存骨量、および全身状態など選択基準と除外基準に鑑み、平成24年度までの8例に加えて平成25年度には7名のエントリーが承認され、第1相予定15例のエントリーが終了した。なお、平成25年度中に8例への培養骨移植を行い、第1相15例への細胞移植が終了した。現在までに15例全例の骨生検を行ない、骨再生を確認した。細胞移植後2年間のフォローアップ期間中であり、第1相臨床研究のエンドポイントとして、安全性と骨再生の程度に関

する評価を行なった。これまでに細胞移植に関連が疑われる有害事象は発生しておらず、治療の安全性が示唆された。また、非脱灰標本を用いた骨占有率の評価では、標本作製が終了した11例の平均は45%であり、比較対象である先行臨床研究と比較して、同等以上と考えられた。また、本臨床研究の課題の一つである個体差については、細胞増殖、骨占有率ともに大幅な改善を認めた。さらに、本研究期間中に先行臨床研究症例の長期フォローアップを行ない、5年以上の経過で安全性の問題が無いことと再生骨上のインプラントの脱落を認めないことを確認した。



グラフは第1相15例の回収細胞数を示す。本年度細胞移植が行なわれた8例において、安定した細胞増殖が得られた。

分化の指標であるALP Indexについては、15症例の平均2.51(1.03-8.13) (基準値1.0以上)であり、全例で基準値を満たしていた。

2. 安全性に関する検討

- ・無菌検査：本年度実施8例全例で陰性
 - ・マイコプラズマ：PCR法、蛍光染色法ともに8例全例で陰性
 - ・エンドトキシン検査：8例全例で陰性
- 現在までに細胞移植が行われた15症

例においては、感染など品質管理上の問題は生じていない。

・有害事象について：本年度中に細胞移植を行なった8例およびこれまでに細胞移植を行なった7例において、細胞移植に関連した有害事象は認められていない。

なお、本年度細胞移植を行なった8例の中で歯槽部への細胞移植を行ない、GBR膜を用いたI-15-9、I-15-14、I-15-15症例において、細胞移植後にGBR膜の露出を認めた。消炎後1か月以上の経過を待ってメンブレンを除去した。GBR膜の露出は、細胞移植に関わらず骨移植など手術による合併症として知られており、今回骨再生量が多いために歯肉の血流障害が生じた可能性が考えられる。その他の症例において、特記すべき問題は生じていない。

なお、これまでに3症例が細胞移植後2年のフォローアップ期間を終了した。

3. 治療効果に関する検討

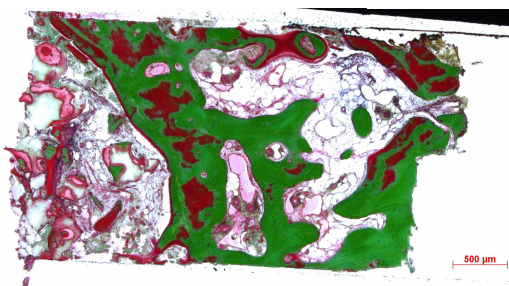
細胞移植の効果については、現在までに骨生検とインプラント埋入を行った15例全例で骨再生が認められた。

インプラント埋入後6か月が経過した9例について、インプラント2次手術が行われた。9例全例でインプラントの骨との結合が得られていた。

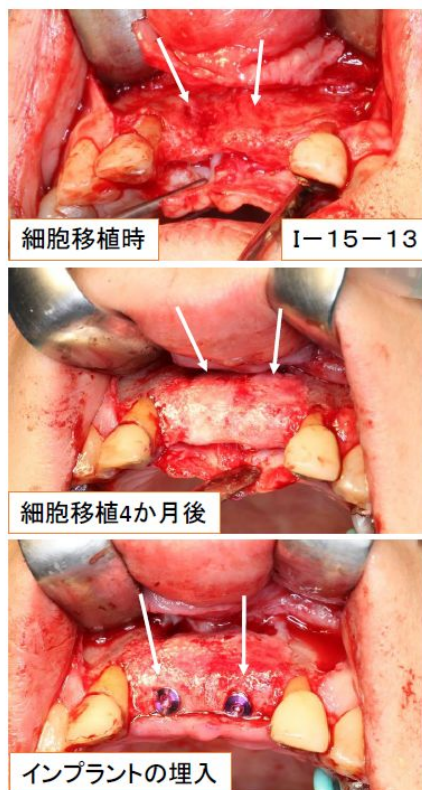
CTでは再生骨は徐々に周囲骨と一体化していた。再生骨量は経過観察機関中に徐々に減少する傾向が見られたが、周囲骨との区別が困難となるため

に、定量的な解析方法については検討中である。

再生骨の組織学的評価では、比較的成熟した骨による骨梁と一部に幼弱な骨組織が認められた。



インプラント埋入時の術中所見の例を以下に示す。

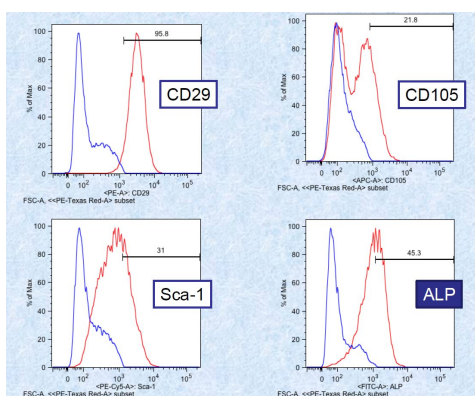


4. 骨再生治療の改良に関する基礎的検討

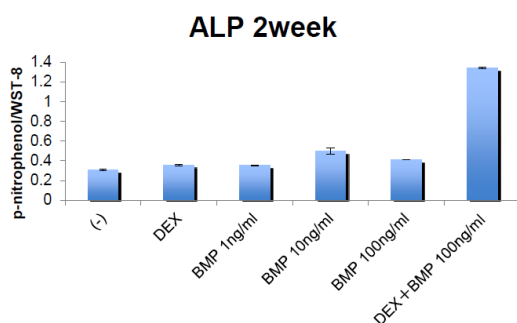
これまでのヒト細胞を用いた骨再生条件の検討には免疫不全動物 (BALB/C AJc1 nu/nu) を用いており、今回正常免疫動物 (BALB/c AJc1) を用いた骨再

生モデルの可能性について検討した。

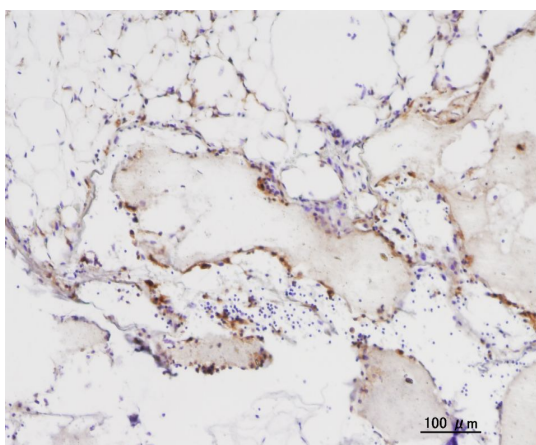
昨年度までの検討にて、マウス皮質骨中に存在する間葉系幹細胞が骨再生には優れた細胞源であり、その培養とキャラクタライズについて検討を行っている。したがって、平成25年度は *in vivo* における移植実験を行なった。



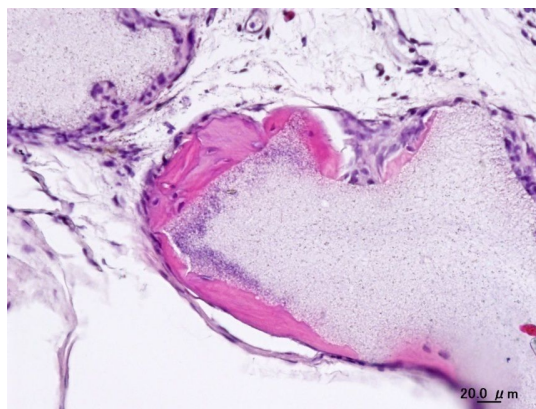
マウス長管骨由来骨芽細胞様細胞は、骨髄間質細胞と同様に間葉系幹細胞マーカー陽性の細胞と骨分化マーカー陽性の細胞が認められた。また、この細胞は安定して増殖可能であり、マウス MSC と同様に、BMP-2 と DEX との併用にて骨分化を示すことが示されている。



以下に免疫正常マウス BALB/c AJc1 への



細胞移植によって得られた組織の免疫染色 (F4/80) と H E 染色を示す。



細胞移植直後より炎症細胞浸潤が認められ、3 日目にはもっとも顕著であった。F4/80 陽性のマクロファージが多数認められ、周囲には CD 8 陽性リンパ球の浸潤を認めた。

その一方で細胞移植 8 週後のサンプルを解析したところ、ヌードマウスのみでなく、免疫正常マウスである BALB/c AJc1 においても骨再生は認められた。また、これまでの検討では、ノードマウスと免疫正常マウスへの移植において、骨再生の程度に差は認められなかった。

5 . 自己骨髄由来培養骨芽細胞様細胞を用いた歯槽骨再生法の長期経過の検討

先行臨床研究 (H 16 ~ 21) にて細胞移植を行なった 8 例は、全例細胞移植後 5 年以上経過症例であった。長期経過の検討については、東大医科研治験審査委員会にて H25.10 承認が得られたため、実施した (25-21) 。転居等で連絡先が不明であった 3 名を除き、5 名と連絡可能であり、全員から参加への同意を得た。

5 例全例において、これまでに細胞移植に関連した有害事象は認められなかった。また、再生骨中に埋入された 19 本のインプ

ラント中動揺、脱落は0本であった。

再生骨量は経時的に減少傾向にあるが、徐々に周囲骨と同化しており、境界は不明瞭となっていた。

D. 考察

1. 新たな細胞調製法について

先行する臨床研究では、8例中1例に細胞増殖不良例が認められ、またこれまでの基礎研究でも10例中1例程度に増殖不良が起こっていた。本臨床研究では、細胞の播種密度の検討や骨再生能の維持のために増殖因子(bFGF)を用いるなど対応をおこなっている。その結果、これまで培養を行なった15症例全例において必要な細胞数を得ることが可能であり、骨分化も確認された。当初は細胞回収数にばらつきが認められたものの、経験にともなって解消されており、本プロトコルは、骨髄間質細胞(間葉系幹細胞)の細胞調製法として有用と考えられた。

2. 臨床研究のこれまでの結果について

本研究では、先行臨床研究と比較して早期(細胞移植後7か月程度から4か月程度へ)に再生骨の骨生検による評価を行っている。現在までに第1相として15症例への細胞移植と骨生検を行なっているが、全例で骨再生が得られ、インプラントの初期固定を得ることができた。予後についてはさらなる検討が必要であるが、これまでのところ安定した骨再生が得られており、骨再生治療としては有用と考えられた。

再生骨に関する組織学的評価では、非脱灰標本を用いて成熟骨と幼弱な骨とを区別している。これまでの標本では、比較的成

熟した骨が多く、早期の骨化が認められた。

一方、本年度には上顎洞のみで無く、歯槽頂部への培養骨移植(GBR法)も4例に行なわれた。歯槽頂部への培養骨移植には、骨の形態を整えるためにチタン製の補強剤の入った隔離膜を用いている。しかしながら、この隔離膜の欠点として術後に露出やそれに伴う感染が多いことが報告されている。

本臨床研究の症例でも、隔離膜としてGBR膜を用いた4例中、3例で術後膜の露出が認められ、内2例ではメンブレン周囲からの排膿など感染所見と認めた。メンブレンは細胞移植後少なくとも4週を待って除去しているが、感染部位の培養骨には骨再生が得られていなかった。一方内部の骨は再生しており、結果としてインプラントの埋入は可能であった。

培養骨の形態の維持はその後のインプラント治療には必要であるが、感染によって移植細胞は失われるため、骨再生に影響を及ぼすことが懸念される。本臨床研究の症例では、術後の適切な管理によってメンブレン露出症例においても必要な骨量を確保することが可能であったが、今後は細胞移植の術式についても検討が必要と考えられた。

なお、本研究においては、細胞を用いた骨再生治療体制の整備として、関連施設とのネットワーク構築、試料保管のための東京大学医科学研究所内への細胞リソースセンター内細胞保管部門の新設などを行ってきた。症例の確保やサンプルの長期保管など、臨床研究の実施に重要な役割を担っている。今後骨再生治療の普及に関しては、これらの基盤設備を学外の研究にも開放し、

活用することが重要と考えられた。

3. 骨再生治療の改良に関する基礎的検討

細胞を用いた再生医療研究では、*in vitro* の解析のみでなく、*in vivo* における解析が重要である。その一方で間葉系幹細胞に代表される体性幹細胞では、種差が大きいことが知られている。従って、これまでの検討では、大動物による検討のみでなく、ヒト細胞を免疫不全動物へと移植する系による検討が重要と考えられてきた。ヒト細胞を用いた検討の重要性は否定されていないが、近年移植部位における局所の炎症反応が移植された細胞に大きな影響を与えることが報告されている。免疫不全動物と正常免疫動物においては局所における免疫応答が異なることから、免疫不全動物における検討結果と実際の臨床における結果とに乖離がある可能性も指摘されている。そこで、われわれは骨再生治療の基盤となっている *in vivo* における骨再生課程を検証する目的で、臨床と近い動物実験モデルとして、同系の免疫正常マウスを用いた骨再生モデルを確立し、免疫不全マウスにおける骨再生との違いについて検討することとした。

その結果として、マウス骨由来細胞を培養、分化誘導し、ヌードマウス背部皮下へと移植することで、本臨床研究とほぼ同様の手法で異所性に骨再生が得られることを示した。さらに、細胞を採取した動物と同系の免疫正常マウスの背部皮下に移植したところ、細胞移植後の炎症反応は認められるももの *in vivo* における骨再生が得られた。また、ヌードマウスを比較しても再生骨量に有意差は認められなかった。現在サンプル数を増やして検討を行なっているが、

少なくとも本研究に用いた同系マウス間においては、骨再生に対する局所の炎症反応の影響は少ないと考えられた。同系マウスへの移植は臨床における自己細胞を用いた骨再生治療と相応することから、本研究は自己骨髄間質細胞を用いた骨再生治療の妥当性を支持するものと考えられた。

4. 長期フォローアップ研究の結果について

東大医科研病院における歯槽骨再生臨床研究の症例について、今回の検討で細胞移植後 5 年から最長 9 年までの経過を追うことが可能であった。その間に細胞移植に伴う有害事象は認められず、治療の安全性が示された。また、再生骨中のインプラントには動揺・脱落はみられず、予後は良好と考えられた。

一方、長期的な骨量は経過観察終了後も減少傾向が見られたが、再生骨と周囲骨との境界が不明瞭であり、定量的な解析は困難であった。今後画像解析ソフトを用いて詳細を検討する予定である。

E. 結論

細胞移植によって骨再生については良好な経過が得られている。また、移植材料の安全性についても問題は生じていない。今後第 Ⅲ 相臨床研究を実施し、そのエンドポイント評価において有用性が示されれば、実用化に向けた体制へとつながるもの期待される。

F. 健康危険情報

本研究において国民の生命、健康に重大な影響を及ぼす事項は発生していない。

G. 研究発表

1 . 論文発表

1. Matsuoka F, Takeuchi I, Agata H, Kagami H, Shiono H, Kiyota Y, Honda H, Kato R. Characterization of time-course morphological features for efficient prediction of osteogenic potential in human mesenchymal stem cells. *Biotechnol Bioeng.* 2014 Jan 14. doi: 10.1002/bit.25189. [Epub ahead of print]
2. Xia D, Sumita Y, Liu Y, Tai Y, Wang J, Uehara M, Agata H, Kagami H, Fan Z, Asahina I, Wang S, Tran SD. GDFs promote tenogenic characteristics on human periodontal ligament-derived cells in culture at late passages. *Growth Factors.* 2013 Oct;31(5):165-73. doi: 10.3109/08977194.2013.830611.
3. Matsuoka F, Takeuchi I, Agata H, Kagami H, Shiono H, Kiyota Y, Honda H, Kato R. Morphology-based prediction of osteogenic differentiation potential of human mesenchymal stem cells. *PLoS One.* 2013;8(2):e55082. doi: 10.1371/journal.pone.0055082. Epub 2013 Feb 21.
4. Miyashita M, Taguchi A, Ochiai T, Kawahara I, Hasegawa H, Kagami H. An aberrant parotid gland duct with a cutaneous orifice, accompanied by sialolithiasis. *J Oral Maxillofac Surg.* 2013 Jan;71(1):77-82. doi: 10.1016/j.joms.2012.04.007. Epub 2012 Aug 15.
5. Kagami H, Agata H, Inoue M, Asahina I, Tojo A, Yamashita N, Imai K. The use of bone marrow stromal cells (bone marrow-derived multipotent mesenchymal stromal cells) for alveolar bone tissue engineering: basic science to clinical translation. *Tissue Eng. Part B.* in press.
6. Agata A, Sumita Y, Asahina I, Tojo A, Kagami A. Ischemic culture of dental pulp-derived cells is a useful model in which to investigate mechanisms of post-ischemic tissue recovery. *Histol Histopathol.* 2013 Aug;28(8):985-91. Epub 2013 Apr 30.
7. 井上実、縣秀樹、朝比奈泉、各務秀明 特集高齢者医療における再生医療の可能性 3 . 歯科領域における再生医療。老年医学 *Geriatr Med.*52(3):131-134,印刷中

2 . 学会発表

1. Kagami H. Bone marrow stromal cells (bone marrow-derived multipotent mesenchymal stromal cells) for alveolar bone tissue engineering: basic science to clinical translation. *Biobridge. Generation regeneration conference.* September 24, 2013, Venice, Italy.
2. Kagami H. Bone marrow stromal cells (bone marrow-derived multipotent

- mesenchymal stromal cells) for alveolar bone tissue engineering: basic science to clinical translation. Potential Applications of Mesenchymal Multipotent Stromal Cells. The 16th US-Japan Cellular and Gene Therapy Conference, Thursday, February 28, 2013, NIDCR, NIH
3. 各務秀明、縣秀樹、住田吉慶、朝比奈泉 歯槽骨・唾液腺の再生研究今後の展開 第 12 回日本再生医療学会総会シンポジウム 5「歯科における再生医療の将来 2013.3.19-21 横浜
 4. 高谷 達夫、伊藤 香那、下地 茂弘、丸川 和也、高田 匡基、中山 洋子、林 富雄、風岡 宜暁、各務 秀明、篠原 淳 ビスフォスフォネート関連顎骨骨壊死 (Stage 2) に対する低侵襲反復腐骨除去法の試み 第 38 回日本口腔外科学会中部地方会 2013 年 6 月 15 日 名古屋
 5. 下地茂弘、高田匡基、丸川和也、伊藤香那、嶋田勝光、落合隆永、中野敬介、内田啓一、長谷川博雅、田口明、篠原淳、各務秀明 Focal osseous dysplasia の 1 例 第 56 回日本口腔科学会学術総会 2013 年 9 月 28 日 金沢
 6. 竹中真治、小林明人、千原隆弘、落合隆永、中野敬介、長谷川博雅、内田啓一、田口 明、各務秀明、篠原 淳 口蓋に発生した線維脂肪腫の 1 例 第 14 回長野県口腔外科談話会 2013 年 11 月 16 日 塩尻
 7. 李 憲起, 楊 静, 水木信之, 高田匡基, 篠原 淳, 各務 秀明 スタチン短期投与と中止がインプラント周囲骨の骨形成に与える影響 第 17 回日本顎顔面インプラント学会学術大会 2013 年 11 月 30 日~2013 年 12 月 1 日 東京
 8. 堀 暁子、縣 秀樹、上嶋 伸知、東條 有伸、各務 秀明 In vitro 唾液腺萎縮モデルによる唾液腺再生メカニズムの検討 第 12 回日本再生医療学会総会 2013.3.19-21 横浜
 9. 山崎 美香, 縣 秀樹, 上原 真理子, 堀 暁子, 東條 有伸, 各務 秀明 マウス皮膚線維芽細胞由来 sphere colony の性質に関する検討 第 12 回日本再生医療学会総会 2013.3.19-21 横浜
 10. 中根 知恵、縣 秀樹、上原 真理子、東條 有伸、各務 秀明 凍結保護剤を用いない新たな細胞凍結保存技術の開発 第 12 回日本再生医療学会総会 2013.3.19-21 横浜
 11. 井上 実, 各務 秀明 自己骨髄間質細胞を用いた歯槽骨再生の臨床研究 第 43 回公益社団法人日本口腔インプラント学会・学術大会 2013.09.14 福岡
- H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)
1. 特許取得 該当なし。
 2. 実用新案登録 該当なし。
 3. その他 該当なし。