

- [26] Kondoh H, Sawa Y, Miyagawa S, Sakakida-Kitagawa S, Memon IA, Kawaguchi N *et al.* (2006). Longer preservation of cardiac performance by sheet-shaped myoblast implantation in dilated cardiomyopathic hamsters. *Cardiovasc Res* 69(2):466-475.
- [27] Kubota A, Nishida K, Yamato M, Yang J, Kikuchi A, Okano T *et al.* (2006). Transplantable retinal pigment epithelial cell sheets for tissue engineering. *Biomaterials* 27(19):3639-3644.
- [28] Kumashiro Y, Yamato M, Okano T (2010). Cell attachment-detachment control on temperature-responsive thin surfaces for novel tissue engineering. *Ann Biomed Eng* 38(6):1977-1988.
- [29] Lalla E, Papapanou PN (2011). Diabetes mellitus and periodontitis: a tale of two common interrelated diseases. *Nat Rev Endocrinol* 7(12):738-748.
- [30] MacNeil RL, Somerman MJ (1999). Development and regeneration of the periodontium: parallels and contrasts. *Periodontology* 2000 19(1):8-20.
- [31] Miyahara Y, Nagaya N, Kataoka M, Yanagawa B, Tanaka K, Hao H *et al.* (2006). Monolayered mesenchymal stem cells repair scarred myocardium after myocardial infarction. *Nat Med* 12(4):459-465.
- [32] Murakami D, Yamato M, Nishida K, Ohki T, Takagi R, Yang J *et al.* (2006a). The effect of micropores in the surface of temperature-responsive culture inserts on the fabrication of transplantable canine oral mucosal epithelial cell sheets. *Biomaterials* 27(32):5518-5523.
- [33] Murakami D, Yamato M, Nishida K, Ohki T, Takagi R, Yang J *et al.* (2006b). Fabrication of transplantable human oral mucosal epithelial cell sheets using temperature-responsive culture inserts without feeder layer cells. *J Artif Organs* 9(3):185-191.
- [34] Nishida K, Yamato M, Hayashida Y, Watanabe K, Maeda N, Watanabe H *et al.* (2004a). Functional bioengineered corneal epithelial sheet grafts from corneal stem cells expanded ex vivo on a temperature-responsive cell culture surface. *Transplantation* 77(3):379-385.
- [35] Nishida K, Yamato M, Hayashida Y, Watanabe K, Yamamoto K, Adachi E *et al.* (2004b). Corneal reconstruction with tissue-engineered cell sheets composed of autologous oral mucosal epithelium. *N Engl J Med* 351(12):1187-1196.
- [36] Offenbacher S, Katz V, Fertik G, Collins J, Boyd D, Maynor G *et al.* (1996). Periodontal infection as a possible risk factor for preterm low birth weight. *Journal of Periodontology* 67(10 Suppl):1103-1113.
- [37] Ohashi K, Yokoyama T, Yamato M, Kuge H, Kanehiro H, Tsutsumi M *et al.* (2007). Engineering functional two- and three-dimensional liver systems in vivo using hepatic tissue sheets. *Nat Med* 13(7):880-885.

- [38] Ohki T, Yamato M, Murakami D, Takagi R, Yang J, Namiki H *et al.* (2006). Treatment of oesophageal ulcerations using endoscopic transplantation of tissue-engineered autologous oral mucosal epithelial cell sheets in a canine model. *Gut* 55(12):1704-1710.
- [39] Ohki T, Yamato M, Ota M, Murakami D, Takagi R, Kondo M *et al.* (2009). Endoscopic Transplantation of Human Oral Mucosal Epithelial Cell Sheets-World's First Case of Regenerative Medicine Applied to Endoscopic Treatment. *Gastrointestinal Endoscopy* 69(5):AB253-AB254.
- [40] Ohki T, Yamato M, Ota M, Takagi R, Murakami D, Kondo M *et al.* (2012). Prevention of esophageal stricture after endoscopic submucosal dissection using tissue-engineered cell sheets. *Gastroenterology* 143(3):582-588 e581-582.
- [41] Okano T, Yamada N, Okuhara M, Sakai H, Sakurai Y (1995). Mechanism of cell detachment from temperature-modulated, hydrophilic-hydrophobic polymer surfaces. *Biomaterials* 16(4):297-303.
- [42] Pirraco RP, Obokata H, Iwata T, Marques AP, Tsuneda S, Yamato M *et al.* (2011). Development of osteogenic cell sheets for bone tissue engineering applications. *Tissue engineering Part A* 17(11-12):1507-1515.
- [43] Sasagawa T, Shimizu T, Sekiya S, Haraguchi Y, Yamato M, Sawa Y *et al.* (2009). Design of prevascularized three-dimensional cell-dense tissues using a cell sheet stacking manipulation technology. *Biomaterials*.
- [44] Sawa Y, Miyagawa S, Sakaguchi T, Fujita T, Matsuyama A, Saito A *et al.* (2012). Tissue engineered myoblast sheets improved cardiac function sufficiently to discontinue LVAS in a patient with DCM: report of a case. *Surg Today* 42(2):181-184.
- [45] Sekine H, Shimizu T, Dobashi I, Matsuura K, Hagiwara N, Takahashi M *et al.* (2011). Cardiac cell sheet transplantation improves damaged heart function via superior cell survival in comparison with dissociated cell injection. *Tissue engineering Part A* 17(23-24):2973-2980.
- [46] Seymour GJ, Ford PJ, Cullinan MP, Leishman S, Yamazaki K (2007). Relationship between periodontal infections and systemic disease. *Clin Microbiol Infect* 13 Suppl 4(3-10).
- [47] Shimizu H, Ohashi K, Utoh R, Ise K, Gotoh M, Yamato M *et al.* (2009). Bioengineering of a functional sheet of islet cells for the treatment of diabetes mellitus. *Biomaterials* 30(30):5943-5949.
- [48] Shimizu T, Yamato M, Isoi Y, Akutsu T, Setomaru T, Abe K *et al.* (2002). Fabrication of pulsatile cardiac tissue grafts using a novel 3-dimensional cell sheet manipulation technique and temperature-responsive cell culture surfaces. *Circ Res* 90(3):e40.
- [49] Shimizu T, Sekine H, Isoi Y, Yamato M, Kikuchi A, Okano T (2006a). Long-term survival and growth of pulsatile myocardial tissue grafts engineered by the layering of cardiomyocyte sheets. *Tissue Eng* 12(3):499-507.

- [50] Shimizu T, Sekine H, Yang J, Isoi Y, Yamato M, Kikuchi A *et al.* (2006b). Polysurgery of cell sheet grafts overcomes diffusion limits to produce thick, vascularized myocardial tissues. *FASEB J* 20(6):708-710.
- [51] Shiroyanagi Y, Yamato M, Yamazaki Y, Toma H, Okano T (2003). Transplantable urothelial cell sheets harvested noninvasively from temperature-responsive culture surfaces by reducing temperature. *Tissue Eng* 9(5):1005-1012.
- [52] Shiroyanagi Y, Yamato M, Yamazaki Y, Toma H, Okano T (2004). Urothelium regeneration using viable cultured urothelial cell sheets grafted on demucosalized gastric flaps. *BJU Int* 93(7):1069-1075.
- [53] Takagi R, Yamato M, Murakami D, Kondo M, Yang J, Ohki T *et al.* (2011). Preparation of keratinocyte culture medium for the clinical applications of regenerative medicine. *Journal of tissue engineering and regenerative medicine* 5(4):e63-73.
- [54] Tsuda Y, Shimizu T, Yamato M, Kikuchi A, Sasagawa T, Sekiya S *et al.* (2007). Cellular control of tissue architectures using a three-dimensional tissue fabrication technique. *Biomaterials* 28(33):4939-4946.
- [55] Tsumanuma Y, Iwata T, Washio K, Yoshida T, Yamada A, Takagi R *et al.* (2011). Comparison of different tissue-derived stem cell sheets for periodontal regeneration in a canine 1-wall defect model. *Biomaterials* 32(25):5819-5825.
- [56] Vescovi P, Campisi G, Fusco V, Mergoni G, Manfredi M, Merigo E *et al.* (2011). Surgery-triggered and non surgery-triggered Bisphosphonate-related Osteonecrosis of the Jaws (BRONJ): A retrospective analysis of 567 cases in an Italian multicenter study. *Oral Oncol* 47(3):191-194.
- [57] Washio K, Iwata T, Mizutani M, Ando T, Yamato M, Okano T *et al.* (2010). Assessment of cell sheets derived from human periodontal ligament cells: a pre-clinical study. *Cell and Tissue Research* 341(3):397-404.
- [58] Yaji N, Yamato M, Yang J, Okano T, Hori S (2009). Transplantation of tissue-engineered retinal pigment epithelial cell sheets in a rabbit model. *Biomaterials* 30(5):797-803.
- [59] Yamada N, Okano T, Sakai H, Karikusa F, Sawasaki Y, Sakurai Y (1990). Thermo-responsive polymeric surfaces; control of attachment and detachment of cultured cells. *Die Makromolekulare Chemie, Rapid Communications* 11(11):571-576.
- [60] Yamato M, Utsumi M, Kushida A, Konno C, Kikuchi A, Okano T (2001). Thermo-responsive culture dishes allow the intact harvest of multilayered keratinocyte sheets without disperse by reducing temperature. *Tissue Eng* 7(4):473-480.
- [61] Yang J, Yamato M, Shimizu T, Sekine H, Ohashi K, Kanzaki M *et al.* (2007). Reconstruction of functional tissues with cell sheet engineering. *Biomaterials* 28(34):5033-5043.

- [62] Yoshida T, Washio K, Iwata T, Okano T, Ishikawa I (2012). Current status and future development of cell transplantation therapy for periodontal tissue regeneration. *Int J Dent* 2012(307024).

特集 先端医療と病院

細胞シートによる再生医療実現プロジェクト

岩田 隆紀・大和 雅之・岡野 光夫

病 院

第73巻 第7号 別刷
2014年7月1日 発行

医学書院

細胞シートによる 再生医療実現プロジェクト

岩田 隆紀 大和 雅之 岡野 光夫

東京女子医科大学先端生命医科学研究所

Keywords: 細胞シート 細胞移植 再生医療三法 再生医療製品 臨床研究

細胞を用いた製品に対する行政の対応

2013年に通称「再生医療三法」が国会を通過し、2014年末より新しい法律に則った再生医療製品の開発が始まろうとしている。以下、三法の概略を述べる。

1. 再生医療推進法

平成25(2013)年4月に成立した、いわゆる理念法であり、再生医療の普及のための施策の策定・実施は「国の責務」とであると明記した上で、再生医療の研究開発から実用化までの施策の総合的な推進を図るとともに、3年ごとに社会情勢に即して対応をアップデートしていくとしている。

本法の成立を受けて、下に述べる「再生医療安全性確保法」ならびに「改正薬事法」が作成され、平成25(2013)年11月に成立した。

2. 再生医療等の安全性の確保等に関する法律(略称「再生医療安全性確保法」)

医療機関で行われるすべての再生医療に対して医療技術リスク(iPS細胞, ES細胞等は高リスク, 体性幹細胞等は中リスク, 体細胞は低リスクと分類)に応じた実施計画の提出の義務化と審査レベルを分類することで、正しい再生医療を適正かつ確実に患者に届けることを推進している。

この法律により「医師法」から「再生医療」は独立することとなり、承認機関での審査に通過しなければ幹細胞を用いた治療はできないこととなる。また、「指針」から「法律」となることで罰則規定もあり、自由診療で実施され問題となっている「似非再生医療」が排斥され、細胞治療の実情の把握が可能となることが予想されている。さらに重要な改正項目としては、細胞培養・加工の外部委託が可能となる。現在は各大学が細胞プロセッシングセンターという

巨大な施設で家内工業的に細胞製品を自作していたが、産業界の参入と培養の機械化・自動化により加速的に細胞を用いた再生医療研究が推進するものと考えられている。

3. 改正薬事法

医薬品・医療機器の二択では分類困難であった細胞製品などは、「再生医療製品」として定義づけられ審査されることとなった。特筆すべき点は「迅速承認の導入」であり、治験第I相, 第II相で安全性が確認され有効性が示唆されれば、第III相を省略して市販後調査に重きが置かれる。これにより最新医療の早期提供が実施可能となる。

病院としての体制づくり

新たな可能性のある治療方法が動物実験などで確認されても、臨床研究を実施するためにはその場となる病院のマネジメントが必須となる。法律の改正や幹細胞培養技術などの

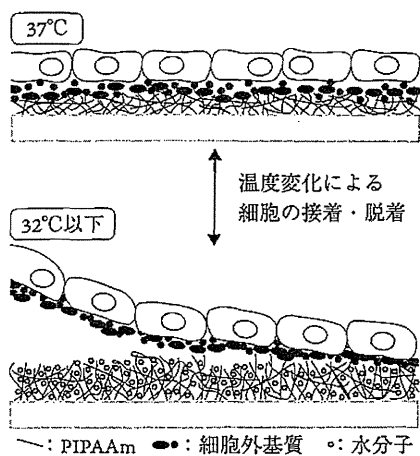


図1 温度応答性高分子と細胞シート

出所: Iwata, et al: Cell sheet engineering and its application for periodontal regeneration. J Tissue Eng Regen Med (In Press) の Figure 3 を改変.

アップデートに即した柔軟な対応と支援体制の構築が急務である。

1. 臨床研究デザインと倫理委員会による審査

上記の「再生医療安全性確保法」に則った臨床研究計画書を作成することが第一ステップとなる。その際に、病院の支援センターなどが実施計画書のみならず患者説明文書・同意書など各種文書のサポートを行うことが望ましい。病院倫理委員会では生命倫理担当者や当該臨床領域の専門医などを委員に配置し、症例数などを決定するに際して生物統計の専門家を介在させ、出口となる先進医療や治験への予備データを過不足なく収集できるような体制を作らなければならない。

2. 研究の実施

医師がストレスなく臨床研究を推進するための体制作りが必要となる。治験コーディネーター (Clinical Research Coordinator; CRC) を医師患者間に介在させることで、治験責

任医師や分担医師の指示のもと、医学的判断を伴わない業務や、事務的業務などをサポートしてもらい、研究の推進を図る必要がある。

3. データマネジメント

臨床研究から得られるデータを回収・モニタリングし、生物統計家が統計解析を行い、総括報告書の作成支援を行ったり、研究結果の論文化や公知支援を図る必要がある。

4. 出口戦略

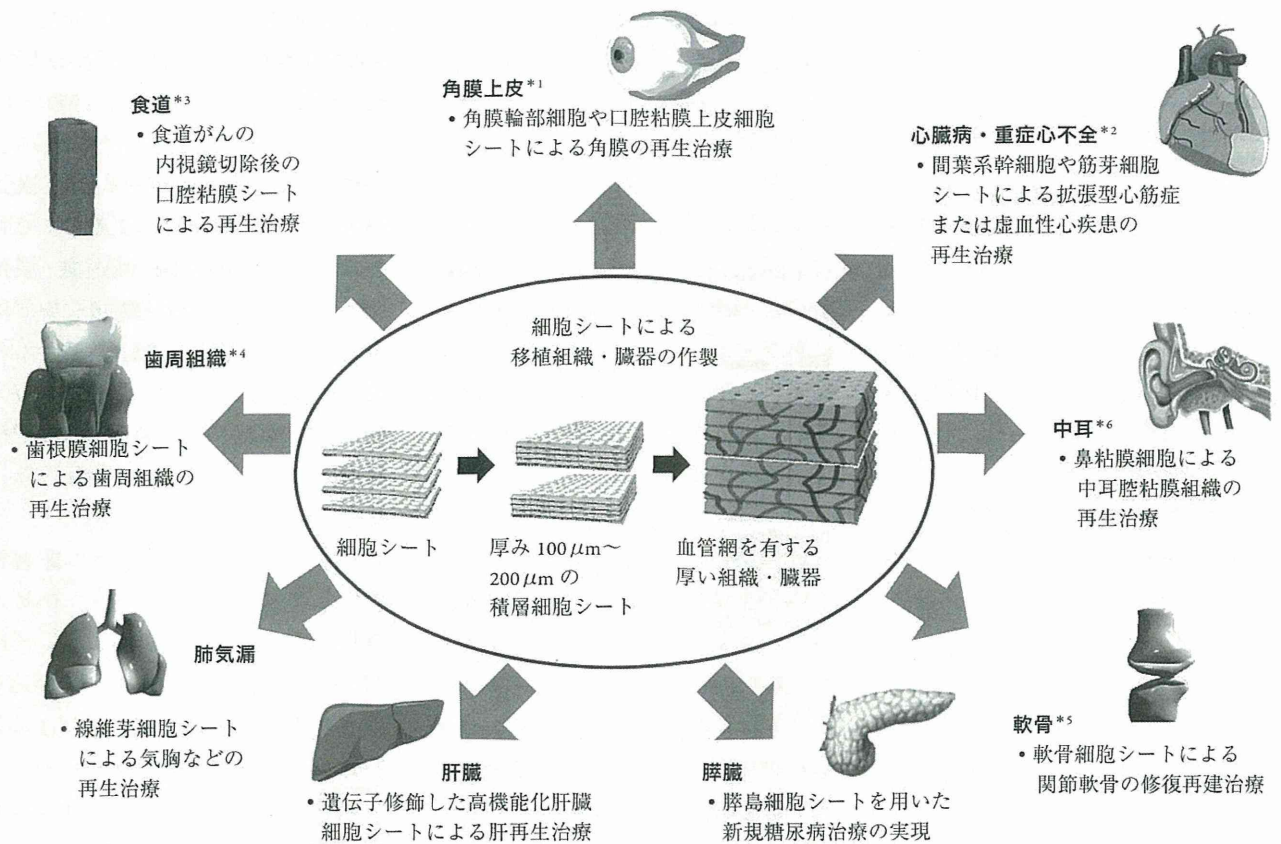
特定施設でのみ実施可能な先進医療を目指すのか、全国的に実施可能かつ保険収載を目指す治験を実施するのか、の二択が再生医療製品の大きな出口となる。それを支援する企業とのマッチングは臨床研究デザイン時から検討すべき項目でもある。

「細胞シート工学」とは

従来の細胞移植では、酵素消化された単一細胞を患部に注入する、もしくは静脈注射する方法が通常とられてきたが、目的の組織に細胞が定着せず血流に乗って肺にトラップされ肺塞栓を引き起こすリスクがあり、死亡事故も報告されている。また、酵素消化された細胞はレセプターなどの重要な蛋白が分解されているために機能が落ち、移植後に正着できたとしても、機能を発揮するまでに時間がかかることがわかっている。これらの注入治療の問題点を克服するために考案されたのが「組織工学 (Tissue Engineering)」の概念である。Langer と Vacanti らによって広く知られるようになった組織工学では「細胞・スキャフォールド (担

体)・成長因子」を組み合わせ、目的の形状を伴った組織の再生が研究されてきた¹⁾。骨・軟骨などの一部の組織においてはその有効性が示されているものの、血管新生が三次元的なスキャフォールドの深部まで到達するのに時間がかかり虚血・壊死が起こること、スキャフォールドは通常、生体分解性の高分子が使われることが多く、それらの高分子が分解される際に起こる炎症反応が組織再生を妨げることなどが明るみになってきた²⁾。

温度応答性培養皿は、温度応答性高分子であるポリN-イソプロピルアクリルアミド (PIPAAm) を電子線を用い培養皿に表面グラフトしたものである³⁾。この培養皿の特徴は通常の細胞培養で用いられる37°C (相転移温度以上) では細胞は良好に接着・増殖するが、培養温度を相転移温度以下 (32°C 以下) にするだけで、表面の親水化に伴って細胞が自発的に脱着することである (図1)。温度を変化させるだけで細胞の接着・脱着を簡単にコントロールすることが可能となった。さらに、細胞を密な状態に培養した場合は細胞と細胞外マトリクス (extracellular matrix; ECM) からなる細胞シートを脱着、回収できる。この技術はトリプシンなどの蛋白分解酵素を用いた既存の細胞回収法では不可能であったことを可能にした。すなわち、細胞やECM、細胞間の接着が切断されることなく維持されるため、細胞をシート状に回収できる。さらにはシートがフィブロネクチンなどの細胞接着分子を健常な状態で保持できることからそれらの接着分子があたかも「糊」の役割を演じ、細胞と移植され



*1~*6 すでに始まっている世界初の細胞シート再生治療(数字は本文と対応)

図2 細胞シート工学を用いた臨床研究
出所:筆者作成

る組織が接着し縫合が不要となる。できあがったシートの厚みは20µm程度であり、薄い組織の再生には最良の細胞移植方法の一つであることがわかってきているが、この細胞シートを何枚も重ね合わせ重層化し、三次元構築することにより厚みのある組織を作製することも可能となってきた⁴⁾。

このように温度応答性培養皿を用いて細胞を非破壊的にシート状に回収し、スキャフォールドフリーで移植する技術を「細胞シート工学」という。近年では厚みのある組織を維持するために血管網を細胞シート間に構築する技術が進められ、生体外で臓器を作り出すことが実現されつ

つある^{5,6)}。従来、別々に存在していた工学系の高分子学と医学系の細胞生物学を結集させ、そこに臨床医の着眼点に加わることで、現在までに、眼科・心臓外科・消化器外科・歯科・整形外科・耳鼻科の各領域でヒトへの移植が実施され、その臨床効果はきわめて高いことがわかってきている。

臨床応用例

細胞シート工学を用いた臨床研究は2003年より眼科領域で開始され、現在では国内のみならず海外への展開も進められている(図2)。

1. 口腔粘膜上皮細胞シートによる角膜幹細胞疲弊症の再生治療

細胞シートを用いた臨床研究は大阪大学にて初めて実施された。患者自身の口腔粘膜上皮細胞シートは温度応答性培養皿を用いて2週間培養することで作製され、難治性の角膜幹細胞疲弊症患者に移植された。全例において視力回復と角膜透過性が維持され副作用はなかった⁷⁾。その後、欧州においても25例の移植がなされ、その有効性と安全性が確認された⁸⁾。日本では先進医療Bに認定され、現在多施設共同臨床試験(大阪大学、東北大学、東京大学、愛媛大学の4大学)が実施されている。

2. 骨格筋芽細胞シートによる心機能の改善

2007年に大阪大学と共同でスタートした重症拡張型心筋症に対する自己骨格筋芽細胞シート移植のヒト臨床研究において、左室補助装置を装着していた患者が移植3か月後には補助装置を取り外し退院するまでに至っており、本治療法の有効性を示す結果が得られた。患者自身の足の骨格筋より採取された筋芽細胞シートが産生するサイトカインが心筋細胞の活性化を引き起こしていると考えられており、現在治験が進められている。

3. 自己口腔粘膜細胞シートを用いた食道がん患者の上皮再生治療の開発

内視鏡的粘膜下層剥離術(endoscopic submucosal dissection; ESD)による消化管がんの内視鏡的治療後に、特に広汎な病変では食道狭窄が問題となってきた。東京女子医科大学・消化器外科では自己口腔粘膜細胞シートを経内視鏡的に患部へ移植する臨床研究を2008年4月より開始し、計画した10例を完了し、安全かつきわめて良好な臨床経過が得られている⁹⁾。さらにはスウェーデン・カロリンスカ研究所との間で共同研究が2012年12月より開始しており、バレット食道に対するラジオ波焼灼療法後の狭窄予防においての有効性が示唆されている。また、国内では長崎大学との共同研究を開始しており、女子医大で製造した細胞シートを空輸し、長崎大学にて移植を実施している。

4. 歯周組織の再生

国民の多くが罹患している歯周病に関しても細胞シートを用いた再生治療が研究されている。患者自身の歯根膜(抜去した歯牙に付着している軟組織)には幹細胞が存在することが確認されており、この歯根膜由来の自己細胞シートを歯周欠損部位に移植することで歯周組織の再生を促す¹⁰⁾。2011年より臨床研究が開始され、2014年度に10例の移植が完了する予定である。

5. 軟骨再生

関節軟骨は他の軟骨と違い、修復再生させることが困難であり、患者のQOLを著しく低下させている。東海大学において変形性膝関節症患者に対する自己軟骨細胞シートの移植が2011年より開始しており、良好な経過を示していることが報告されている。

6. 中耳の再生

中耳疾患では鼓室形成術などの手術を行うことが多いが、術後の粘膜治癒が不良であると聴力の低下や再発リスクが高まる。これまで様々な手技的な工夫がなされているものの良好な予後が得られていなかったもので、患者自身の鼻腔粘膜から細胞シートを作製し、中耳手術後の粘膜欠損に移植する臨床研究が東京慈恵会医科大学にて2014年から開始されている。

細胞シート工学の未来像

成人には、完全に分化した細胞(体細胞)と骨髄細胞などの幹細胞が存在し、これらを体性幹細胞もしくはは

組織幹細胞という。体性幹細胞は数種類の細胞へ分化する能力(多分化能)を持つことがわかっており、これらの細胞を患者自身から採取し、試験管内で増やしたり分化させたものをシート状に加工し移植すれば、患部の創傷治癒の促進や組織再生を促すものと考えられる。既に基礎研究レベルでは様々な組織の再生に細胞シート工学が応用され、心筋細胞¹¹⁾、肝細胞¹²⁾、尿路上皮細胞¹³⁾、膵島細胞¹⁴⁾、胸腺細胞¹⁵⁾などから作られた細胞シートが組織再生を引き起こすことがわかってきている。しかしこれらの細胞を患者自身から採取することは一般的には困難である。そこで本学ではiPS細胞から目的とする細胞を分化させ移植する技術開発を進めている¹⁶⁾。

世界を見渡しても細胞を用いた臨床研究は世界中で数多く推進されており、世界最大の臨床研究データベース(<http://clinicaltrials.gov/>)で検索すると3,000件近くのヒットがある。そのほとんどが血球系や間葉系などの体細胞や体性幹細胞の移植研究であるが、今後はES/iPS細胞を用いた基礎研究の進展次第では、これまで治せなかった難病などを救える可能性があるのかもしれない。

おわりに

以上のように細胞シートを応用した再生医療は急速かつ多分野にわたって発展しているが、上記臨床研究はすべて「自家」細胞を用いた臨床研究であり、患者自身の健全組織からの細胞抽出が必須である。細胞ソースの問題を克服するため、また、より簡便かつ普及しうる臨床オプ

ションとなるためには「他家」細胞やES/iPS細胞を用いた研究が今後盛んに実施されるものと考えられる。京都大学・山中伸弥教授のノーベル賞受賞以降、国民の幹細胞治療への期待は熱く、昨年成立した再生医療関連三法を含め行政の対応も迅速である本領域のさらなる発展が見込まれている。

文献

1) Langer R, Vacanti JP : Tissue engineering. Science 260:920-926, 1993
 2) Yang J, et al : Cell sheet engineering : recreating tissues without biodegradable scaffolds. Biomaterials 26 (33) :6415-6422, 2005
 3) Okano T, et al : A novel recovery system for cultured cells using plasma-treated polystyrene dishes grafted with poly (N-isopropylacrylamide) . J Biomed Mater Res 27 (10) :1243-1251, 1993
 4) Haraguchi Y, et al : Fabrication of functional three-dimensional tissues by stacking cell sheets in vitro. Nat Protoc 7 (5) :850-858,

2012
 5) Sakaguchi K, et al : In vitro engineering of vascularized tissue surrogates. Sci Rep 3:1316, 2013
 6) Sekine H, et al : In vitro fabrication of functional three-dimensional tissues with perfusable blood vessels. Nat Commun 4:1399, 2013
 7) Nishida K, et al : Corneal reconstruction with tissue-engineered cell sheets composed of autologous oral mucosal epithelium. N Engl J Med 351 (12) :1187-1196, 2004
 8) Burillon C, et al : Cultured autologous oral mucosal epithelial cell sheet (CAOMECS) transplantation for the treatment of corneal limbal epithelial stem cell deficiency. Investigative ophthalmology & visual science 53 (3) :1325-1331, 2012
 9) Ohki T, et al : Prevention of esophageal stricture after endoscopic submucosal dissection using tissue-engineered cell sheets. Gastroenterology 143 (3) :582-588 e1-2, 2012
 10) Iwata T, et al : Cell sheet engineering and its application for periodontal regeneration. J Tissue Eng Regen Med, 2013
 11) Shimizu T, et al : Long-term survival and growth of pulsatile myocardial tissue grafts engineered by the layering of cardiomyocyte sheets. Tissue Eng 12 (3) :499-507, 2006

12) Ohashi K, et al : Engineering functional two- and three-dimensional liver systems in vivo using hepatic tissue sheets. Nat Med 13 (7) :880-885, 2007
 13) Shiroyanagi Y, et al : Urothelium regeneration using viable cultured urothelial cell sheets grafted on demucosalized gastric flaps. BJU Int 93 (7) :1069-1075, 2004
 14) Shimizu H, et al : Bioengineering of a functional sheet of islet cells for the treatment of diabetes mellitus. Biomaterials 30 (30) :5943-5949, 2009
 15) Arauchi A, et al : Tissue-engineered thyroid cell sheet rescued hypothyroidism in rat models after receiving total thyroidectomy comparing with nontransplantation models. Tissue Eng Part A 15 (12) :3943-3949, 2009
 16) Haraguchi Y, et al : Simple suspension culture system of human iPS cells maintaining their pluripotency for cardiac cell sheet engineering. J Tissue Eng Regen Med, 2013

いわた たかのり
 やまと まさゆき
 おかの てるお
 東京女子医科大学先端生命医科学研究所
 〒162-8666 東京都新宿区河田町 8-1
 iwata.takanori@twmu.ac.jp

MEDICAL BOOK INFORMATION 医学書院

今日の治療指針 2014年版 私はこちら治療している

監修 山口 徹・北原光夫
 総編集 福井次矢・高木 誠・小室一成

デスク判 ●B5 頁2128 2014年
 定価:本体19,000円+税
 [ISBN978-4-260-01868-5]
 ポケット判 ●B6 頁2128 2014年
 定価:本体15,000円+税
 [ISBN978-4-260-01869-2]

臨床医が日常遭遇する疾患とその治療ストラテジーを、約1,100項目にわたって第一線のエキスパートが書き下ろした、信頼と実績の最新治療年鑑。今版から重要疾患について「治療のポイント」を掲載。薬物療法が商品名で記載される「処方例」、新しい疾患概念や学会のトピックを領域ごとにまとめた「最近の動向」、服薬指導のポイントを簡潔にまとめたコラム「服薬指導・薬剤情報」、多彩な付録など、診療に役立つ情報が満載。

自己培養歯根膜細胞シートを用いた歯周組織の再建

岩田隆紀 Takanori Iwata^{1,2)}鷺尾 薫 Kaoru Washio¹⁾葭田敏之 Toshiyuki Yoshida¹⁾大和雅之 Masayuki Yamato¹⁾安藤智博 Tomohiro Ando²⁾岡野光夫 Mitsuo Okano¹⁾石川 烈 Isao Ishikawa¹⁾

1) 東京女子医科大学先端生命医学研究所

2) 東京女子医科大学医学部歯科口腔外科

はじめに

筆者ら東京女子医科大学では、患者自身の歯根膜組織より組織幹細胞を抽出し、細胞シート工学を用いて細胞をシート状に加工し、患者に移植する臨床研究を進めている（患者のエントリーは終了している）。

患者自身の不働歯を抜歯し、歯根膜組織由来の幹細胞を抽出・培養し、厚さ 20～30 μm 程度のシート状の歯根膜細胞（図 1）を 3 枚重ねて、患部に貼り付ける。骨欠損に関してはβ三リン酸カルシウム顆粒を充填し、歯肉弁を復位・縫合する（図 2）。これまでに 9 例の移植が完了し、6 カ月の観察期間を完了したすべての症例においてその安全性と有効性を確認しているため、ここに報告する。

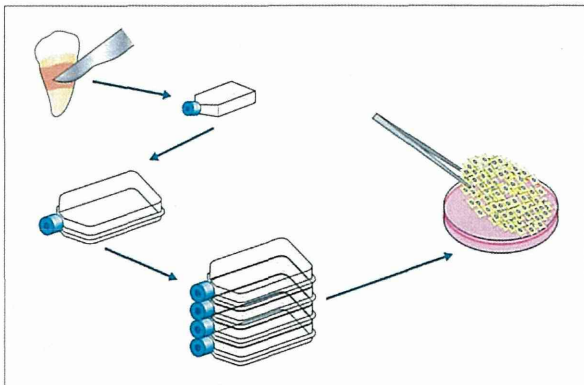


図 1 培養の模式図

歯根中央 1/3 から採取された歯根膜組織は酵素消化された後、2 週間培養する。その間に約 1,000 倍に殖える。その後、温度応答性培養皿に播種された歯根膜細胞はさらに 2 週間培養され、丈夫な細胞シートが作られる

「細胞シート工学」とは？

「細胞シート」とは、温度応答性細胞培養皿からトリプシンなどの酵素を使わずに細胞を非破壊的に剥離したシート状の組織のことを指す（図 3）。温度応答性培養皿には厚さ 20nm 程度の温度応答性高分子であるポリ N-イソプロピルアクリルアミド (PIPAAm) が共有結合しており、その特徴は通常の細胞培養で用いられる 37°C では細胞は良好に接着・増殖するが、温度を相転移温度以下 (32°C 以下) にするだけで、表面の親水化にとまって細胞が自発的に脱着してくることである。よって、接着細胞をコンフルエントまで培養し、温度を室温程度にまで下げることにより、細胞間の結合や細胞の分泌し

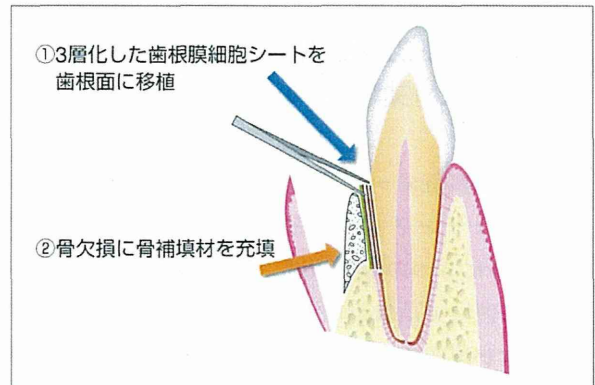


図 2 移植の模式図

通常のフラップ手術後に歯根面を EDTA で処理し、3 層化した歯根膜細胞シートは歯根面に移植される。その後、骨欠損には骨補填材が充填される

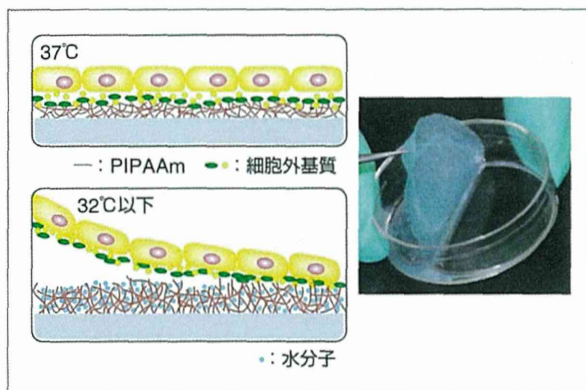


図3 温度応答性培養皿の模式図
 温度応答性培養皿上に37℃で培養された歯根膜細胞は温度を室温(25℃程度)に下げただけで、シート状に回収することができる。歯根膜細胞自身が細胞外に分泌した接着タンパクにより、患部に貼りつくことができる

た細胞外マトリックスなどを保持した状態の「細胞シート」を回収することができる。

本技術の利点は、細胞外マトリックスがあたかも「糊」の役割を演じ、細胞と移植される組織が数十分程度で接着することから、縫合が不要となるばかりでなく、細胞間ならびに細胞と細胞外マトリックスの相互作用も保持されていることから移植側での細胞の拡散が起こりにくく、高次機能を有した組織を移植できる点である。さらには、細胞シートを積み重ねることで厚みのある組織を構築することも可能となっており、「細胞シート工学」という新学術領域を形成してきた。

細胞シート工学を用いた ヒト臨床の実際 (図4)

この「細胞シート工学」を用いた技術は、幹細胞生物学とリンクすることで再生医療への応用が進み、すでに6つの臨床領域で移植が実施されている。

眼科領域では自己口腔上皮細胞シートを用いた角膜再生が臨床で良好な成績を収め、先進医療に認定された。心臓領域では自家骨格筋芽細胞シートを直接心臓に貼ることで心機能が改善し、多施設での治療が実施されている。消化器領域においては内視鏡下での表層ガン切除後に自己口腔上皮細胞シートを

用いることにより術後の狭窄を予防できることが確認され、長崎大学やスウェーデン・カロリンスカ研究所においても臨床研究が実施されている。歯科においては歯周病によって失われた歯周組織の再建のため、自己歯根膜細胞シートの移植が実施されている。整形外科領域では変形性膝関節症に対して自己軟骨細胞シートによる組織修復が実施されている。耳鼻科領域においては中耳粘膜再生のために自己鼻粘膜上皮細胞シートの応用が、本年より開始された。

なぜ歯根膜細胞を用いるのか?

口腔内にはさまざまな幹細胞が存在し、それらの多くは成人にも存在する¹⁾。たとえば、刺激によって二次象牙質が添加される事象では歯髄内に存在する幹細胞が働いていることは広く知られている。このような成人にも存在する幹細胞を「組織幹細胞」という。

組織幹細胞のなかでも歯周組織再生を担うのは歯根膜細胞であることが、GTR法の原理からもわかるように立証されてきた²⁾。また、近年の幹細胞生物学の発展から歯根膜組織の中には幹細胞が存在し、移植した細胞それ自体が歯根膜・セメント質・歯槽骨の各組織に分化しうることが証明された³⁾。よって、われわれの臨床研究では、患者自身の抜歯から健全な歯根膜組織を採取し、歯根膜幹細胞を単離・培養し、患部への移植を実施している。

歯根膜細胞シートを用いた 臨床研究までの道のり

「細胞シート工学」を用いた歯周組織の再生研究は2000年前後より開始され、当初、長谷川昌輝先生(当時、東京医科歯科大学歯周病学講座大学院生)が東京女子医大に通いながら研究を進め、免疫不全ラット歯周欠損モデルにヒト歯根膜細胞シートを移植すると靭帯様構造物が観察されることを2005年に報告した⁴⁾。その後、細胞の抽出方法や培養方法⁵⁾や検査方法⁶⁾、イヌを用いた移植方法の確立⁷⁾や歯

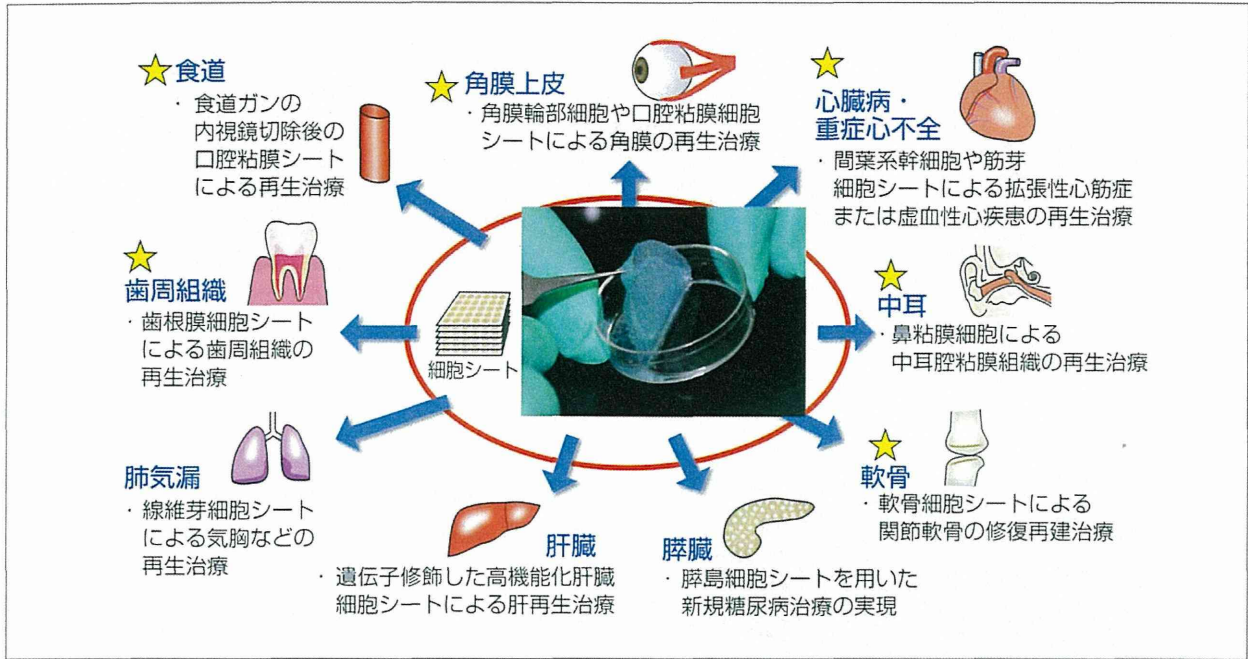


図4 細胞シート工学によって治療可能となる疾患と実際に臨床研究されている臓器・組織
★のついた6つの分野において、すでに臨床応用が始まっている

- 症例数 10例 (単相)
- 対象症例 中等度歯周病 (歯槽骨欠損がX線写真にて確認され、初期治療後歯周ポケット4~9mm程度を有する歯周病)
- 選択基準 20歳以上、咬合に参画せず健全な歯根膜組織を有する歯 (たとえば第三大臼歯やそれに準ずる歯)

図5 本臨床研究の概要・適応症

- 歯周組織再生に障害をきたす医学的要因を有する患者 (たとえば、コントロールされていない糖尿病、高血圧、心不全、免疫機能低下)
- 妊婦および妊娠の可能性のある女性
- 重度の喫煙習慣 (11本以上/日) を有する患者
- その他、何らかの理由により本研究を実施するのに不適當と考えられる症例 (広範な齲蝕歯・エンド病変・固定できない外傷性咬合歯等)

図6 本臨床研究の除外基準

根膜細胞の歯周組織再生における有効性の確認⁸⁾を実施し、2011年1月に厚生労働大臣の承認を得て、臨床研究を開始した。

自己歯根膜細胞シートを用いた臨床研究の実際

本臨床研究の概要・適応症 (図5) と除外基準 (図6) を示す (図7~10)。

異なる細胞ソースを用いた歯周組織の細胞治療

わが国では細胞を用いた歯周組織の再生が積極的に研究されており、これまでに骨髄・歯槽骨膜・皮下脂肪組織由来の幹細胞を用いた臨床研究が実施されてきている。歯根膜由来の細胞とは異なり、異所への移植ではあるが、細胞が比較的手に入りやすい

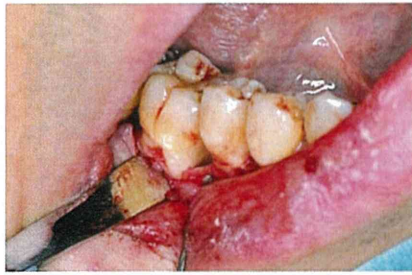


図7 臨床例。6)近心に垂直性の骨吸収が確認された。デブライドメントが終了した後に根面をEDTAで処理し、生理食塩水でよく洗浄する

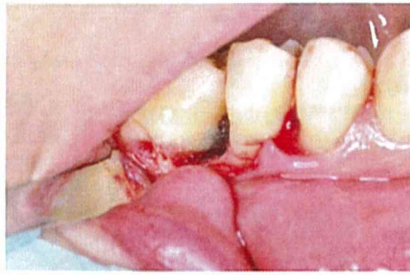


図8 臨床例。欠損歯根面のサイズにトリミングされた3層化した歯根膜細胞シートは、ピンセットで患部に移植される

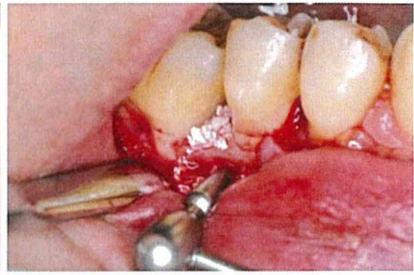


図9 臨床例。骨欠損は骨補填材(オスフェリオン; オリンパスバイオマテリアル社)で充填される

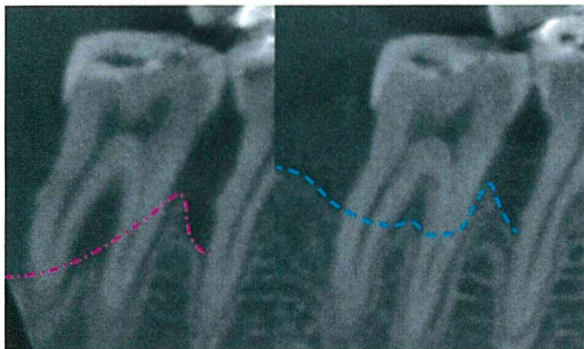


図10 別臨床症例
術前(左)と術後6カ月(右)のCTスライス画像。骨レベルの著明な回復が確認された

という利点もあり、臨床研究の結果は注目されている。また、これらの研究を実施する関係者が中心となり、「歯周組織治療用細胞シートに関する評価指標」を策定し、2011年12月7日に厚生労働省より本ガイドラインが発出された。細胞治療を安全に行ううえで必要な検査などの事項がまとめられている。

細胞治療を取り巻く法整備

幹細胞を用いて治療を行う際には下記の「ヒト幹指針」に従った臨床研究を実施するか、医師法に基づいて自由診療で実施するかの2択であったが、本年中に公布される新法(「再生医療安全性確保法」)ではすべての細胞治療は届け出と承認が必要となる。

1) 「ヒト幹細胞を用いた臨床研究に関する指針」(略称「ヒト幹指針」)

近年の幹細胞研究の発展により、既存治療では根治しえなかった疾患に対する細胞治療への期待が高まってきた。通常はマウス・ラットなどの小動物を用いて細胞移植の効能が確認されれば、中型・大型動物での研究を経て、ヒト臨床研究が開始される。それでは、ヒトに移植する細胞はどうあるべきなのであろうか? 患者さんを保護するためには何が必要なのか?

このような前人未踏の領域において規制当局(厚生労働省)から「ヒト幹細胞を用いた臨床研究に関する指針」が2006年に策定され、臨床研究に関するガイドラインが示された。2010年、2013年に全部改正も実施され、現実に即したアップデートが随時行われている(それぞれの改正によりiPS細胞、ES細胞を用いた臨床研究が可能となった)。2013年7月現在、全国で84件のヒト幹細胞臨床研究が承認されているが、下記の「再生医療安全性確保法」の成立により、その役割を終える。

2) 「再生医療推進法」

2013年4月に成立した、いわゆる理念法であり、再生医療の普及のための施策の策定・実施は「国の責務」と明記したうえで、再生医療の研究開発から実用化までの施策の総合的な推進を図るとともに、3年ごとに社会情勢に即して対応をアップデートしていくとしている。

本法の成立を受けて、下に述べる「再生医療安全性確保法」ならびに「改正薬事法」が作成され、2013年11月に成立した。

3) 「再生医療等の安全性の確保等に関する法律」(略称「再生医療安全性確保法」)

医療機関で行われるすべての再生医療に対して、医療技術リスク(iPS細胞, ES細胞等は高リスク, 体性幹細胞等の中リスク, 体細胞は低リスクと分類)に応じた実施計画の提出の義務化と審査レベルを分類することで、正しい再生医療を適正かつ確実に患者に届けることを推進している。「医師法」から「再生医療」は独立することとなり、承認機関での審査に通過しなければ幹細胞を用いた治療はできないこととなる。

また、「指針」から「法律」となることで罰則規定もあり、自由診療で実施され問題となっている「似非再生医療」が排斥され、細胞治療の実情の把握が可能となることが予想されている。さらに重要な改正項目としては、細胞培養・加工の外部委託が可能となる。現在は各大学が細胞プロセッシングセンターという巨大な施設で家内工業的に細胞製品を自作していたが、産業界の参入と培養の機械化・自動化により加速的に細胞を用いた再生医療研究が推進するものと考えられている。

4) 改正薬事法

医薬品・医療機器の2択では分類困難であった細胞製品等は、「再生医療製品」として定義づけられ、審査されることとなった。特筆すべき点は「迅速承認の導入」であり、治験第I相、第II相で安全性が確認され有効性が示唆されれば、第III相を省略して市販後調査に重きが置かれる。これにより最新医療の早期提供が実施可能となる。

まとめ

以上のように、細胞シートを応用した再生医療は急速かつ多分野にわたって発展しているが、上記臨

床研究はすべて「自家」細胞を用いた臨床研究であり、患者自身の健全組織からの細胞抽出が必須である。細胞ソースの問題を克服するため、また、より簡便かつ普及しうる臨床オプションとなるためには、「他家」細胞やES/iPS細胞を用いた研究が今後盛んに実施されるものと考えられる。

京都大学山中教授のノーベル賞受賞以降、国民の幹細胞治療への期待は熱く、昨年成立した再生医療関連三法を含め行政の対応も迅速である本領域の、さらなる発展が見込まれている。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、東京女子医科大学先端生命医科学研究所の辰巳公平助教、黒田ほずえ技師、高木 亮博士研究員、加藤ゆか先生、森 南奈先生(福岡歯科大学歯周病学分野より国内留学)、また東京女子医科大学歯科口腔外科の貝潤信之先生、岡本俊宏准教授、扇内秀樹名誉教授、医局員の皆様、また東京医科歯科大学の和泉雄一教授、木下淳博教授、妻沼有香先生、山田 梓先生、Supreda Suphanantachat 先生、鬼塚 理先生、矢野孝星先生からは多大なご支援・ご協力を賜りました。また、セルシード社・オリンパス社にもご協力していただきました。本研究は先端融合領域イノベーション創出拠点形成プログラム「再生医療本格化のための最先端技術融合拠点」ならびにG-COE「再生医療本格化のための集学的教育研究拠点」によって行われました。

文 献

- 1) Egusa H, et al. Stem cells in dentistry--part I: stem cell sources. *J Prosthodont Res.* 2012; **56**(3): 151-165.
- 2) Nyman S, et al. The regenerative potential of the periodontal ligament. An experimental study in the monkey. *J Clin Periodontol.* 1982; **9**(3): 257-265.
- 3) Seo BM, et al. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet.* 2004; **364**(9429): 149-155.
- 4) Hasegawa M, et al. Human periodontal ligament cell sheets can regenerate periodontal ligament tissue in an athymic rat model. *Tissue Eng.* 2005; **11**(3-4): 469-478.
- 5) Iwata T, et al. Validation of human periodontal ligament-derived cells as a reliable source for cytotherapeutic use. *J Clin Periodontol.* 2010; **37**(12): 1088-1099.
- 6) Washio K, et al. Assessment of cell sheets derived from human periodontal ligament cells: a pre-clinical study. *Cell Tissue Res.* 2010; **341**(3): 397-404.
- 7) Iwata T, et al. Periodontal regeneration with multi-layered periodontal ligament-derived cell sheets in a canine model. *Biomaterials.* 2009; **30**(14): 2716-2723.
- 8) Tsumanuma Y, et al. Comparison of different tissue-derived stem cell sheets for periodontal regeneration in a canine 1-wall defect model. *Biomaterials.* 2011; **32**(25): 5819-5825.

●セルシートエンジニアリング

歯周組織再生

*1 東京女子医科大学 先端生命医科学研究所 **1 同 特任講師 ***1 同 所長 ****1 同 特任教授

*2 東京女子医科大学 歯科口腔外科 **2 同 主任教授

岩田隆紀**1*2 鷺尾 薫*1 大和雅之***1
安藤智博**2 石川 烈*1 岡野光夫****1

要旨

歯周病は多くの日本人が罹患している細菌感染による炎症性骨吸収であり、進行すると抜歯に至る。さまざまな再生療法が試されてきた本領域ではあるが、今世紀以降、大学を中心として細胞を用いた治療法が研究されてきた。筆者らは細胞シート工学を用いて効率良くかつ高い機能を保持した細胞移植法を開発し、自己歯根膜幹細胞を歯周病罹患部位へ移植する臨床研究を実施しており、次世代型の再生医療製品の開発を目指している。

はじめに

“歯周炎”とは、口腔内細菌による炎症性骨吸収を伴う疾患である。歯周ポケット周囲のプラーク（細菌叢）を放置すると炎症を引き起こし“歯肉炎”になるが、“歯肉炎”は可逆的病態であり、適切な対応により健康状態に戻ることができるものの、炎症を放置し周囲の歯槽骨の炎症性吸収が起ると、通常は元に戻らない。よって、患者自身が適切なプラークコントロールを実施することと医療者による定期的なメンテナンスが協働することにより、予防することは十分可能であると考えられている¹⁾が、40歳以上の日本国民の40%以上が、歯周炎に

キーワード：細胞シート工学，歯根膜細胞，歯周組織再生

図1 歯周病の臨床所見



45歳女性. 主訴は数ヵ月ごとの疼痛. 左下犬歯周囲に歯肉の退縮と歯間空隙が見受けられた. X線写真より骨吸収が根尖に達していたため, 抜歯を選択せざるをえなかった.

罹患していることが, 厚生労働省の歯科疾患実態調査より明らかになっている²⁾. 歯周炎初期の段階では自覚症状に乏しいため, 明らかな症状を患者自身が自覚した際には歯周炎はかなり進行していることが多く, 抜歯に至るケースも少なくない(図1).

歯周組織の再生

歯周炎で歯槽骨が破壊されると歯肉の退縮が起り, それにより咀嚼障害・発音障害などの機能障害のみならず, 審美障害・知覚過敏と根面カリエスなどの, さまざまな問題が起る. さらにはプラークコントロールが困難化し, 歯周炎再発を防止するには, 患者・医療者双方へ多大な負担がかかることが分かっている. そこで, 歯周組織の再生療法が, 古くより実践されてきた. 歯周組織再生は歯と歯槽骨をつなぐ付着器官を再生することを目的とし, 単なる歯槽骨の再生を指すわけではなく, “硬組織(歯根表面のセメント質)-軟組織(歯周靱帯)-硬組織(歯槽骨)”という付着ユニットの再生を同時に促さなければいけないために, 困難を伴う. 歯周組織再生療法としては, ①自家・他家・合成物などの骨補填剤, ②遮断膜, ③成長因子などの生物製剤, などがすでに臨床で応用されているが, 適応症が限られていたり, 予知性が不安定であるなどの問題点を包含している³⁾. また, これらのバイオマテリアルを用いた再生療法はそもそも直接的ではなく, 欠損部に適用したバイオマテリアルが患者自身の細胞に働きかけることで

再生を引き起すという，間接的な再生療法である．具体的にはマテリアルが患部の細胞に働きかけることで歯周組織の各コンポーネント（歯根膜，セメント質，歯槽骨）を形成していく．そこで，マテリアルには，① 周囲の幹細胞を引き寄せる，② 幹細胞を目的の細胞に分化させる，③ 新生組織の形成を促進させる，などの性能が求められる⁴⁾．再生における主役はあくまでも細胞なのである．

近年の幹細胞生物学と組織工学の発展により，患者から微量な組織を採取し，その組織の中から幹細胞を抽出し，生体外で増幅させる技術が確立されてきた．このような幹細胞生物学と組織工学を背景とした細胞治療の研究が，歯周領域においても2000年以降，大学を中心に進められている．歯周病を歯周組織幹細胞疲弊症としてとらえ，生体に存在する幹細胞をバイオマテリアルとコンビネーションで移植する細胞治療である．本邦ではすでに4つの大学でヒト臨床試験が完了ならびに開始しており，本稿では，歯根膜幹細胞と細胞シート工学を用いた歯周組織の再生に関して解説する．

細胞ソースとしての歯根膜組織由来幹細胞

歯牙とそれを支える歯槽骨の間には歯根膜という靭帯様軟組織が介在し，咀嚼時のクッション機能や噛み心地を脳に伝える神経伝達機能，ならびに口腔内細菌に対する防御機能などを保持することが分かってきた．また近年では，歯根膜組織内には多分化能を有する幹細胞集団が存在し，歯周組織再生の担当細胞であることが示唆されている⁵⁾．よって我々の臨床研究では，患者自身の抜去歯牙から健全な歯根膜組織を採取し，歯根膜幹細胞を単離・培養し，患部への移植を実施している⁶⁾．

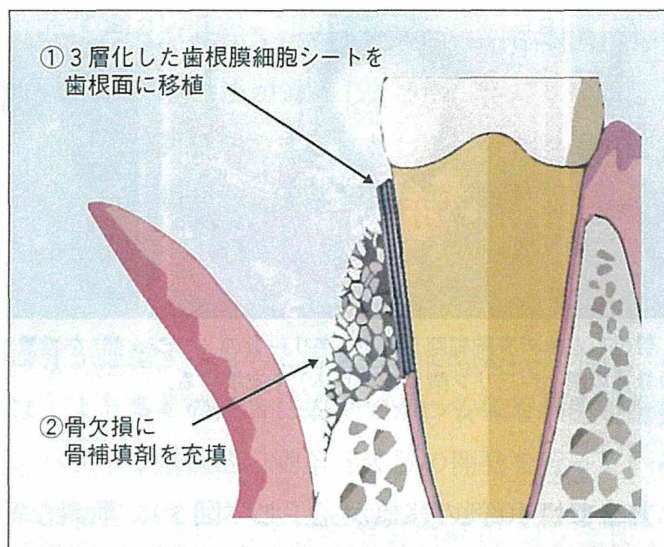
ヒト歯根膜幹細胞は発生学的には神経堤由来の細胞と考えられているが，ヒト間葉系幹細胞（hMSC）と性質が非常によく似ていると考えられている⁷⁾．我々の研究では，ヒト歯根膜幹細胞はhMSCの必要最小要件である ① プラスチック（培養基材）に接着する，② 95%以上の細胞がフローサイトメーターでCD105，CD73ならびにCD90陽性であり，かつ，CD45（白血球共通抗原），CD34（造血前駆細胞のマーカー），CD14もしくはCD11b（単球やマクロファージのマ

カー), CD79 α もしくは CD19 (B細胞のマーカー) などの血球系マーカー, ならびに HLA-DR 陰性 (2% 以下) である, ③ *in vitro* で分化環境下で骨芽細胞, 脂肪細胞, 軟骨細胞に分化しうる, の3点の性質⁹⁾ を保持しているが, 軟骨細胞への分化能は低いことが分かった⁷⁾. 体幹の骨のように軟骨内骨化によって形成されず, 顎骨の発生様式が膜内骨化であることが原因なのかも知れない. ヒト歯根膜幹細胞は, アルカリホスファターゼ活性ならびに骨芽細胞への分化能が比較的高く, *in vitro* で培養すると石灰化結節の形成が観察される.

温度応答性培養皿と細胞シート工学

温度応答性培養皿は, 温度応答性高分子であるポリ-N-イソプロピルアクリルアミド (PIPAAm) を, 電子線を用い培養皿に表面グラフトしたものである. この培養皿の特徴は通常の細胞培養で用いられる 37°C (相転移温度以上) では細胞は良好に接着・増殖するが, 培養温度を相転移温度以下 (32°C 以下) にするだけで, 表面の親水化に伴って細胞が自発的に脱着してくることである. さらに, 細胞を密な状態に培養した場合は, 細胞と細胞外マトリックス (ECM) から成る細胞シートを脱着, 回収できる. この技術は, トリプシンなどのタンパク分解酵素を用いた既存の細胞回収法では不可能であったことを可能としている. すなわち, 細胞や ECM, 細胞間の接着が切断されることなく維持されるため, 細胞をシート状に回収できる. さらに, シートがフィブロネクチンなどの細胞接着分子を健全な状態で保持できることから, それらの接着分子があたかも“糊”の役割を演じ, 細胞と移植される組織が接着し縫合が不要となる. この細胞シートを用いることにより, 眼科領域では自己口腔上皮細胞シートを用いた角膜の再生がヒト臨床応用され⁹⁾, 先進医療に認定された. 消化器領域においては, 内視鏡下での表層がん切除後に, 自己口腔上皮細胞を用いることにより術後の狭窄を予防できることが確認され¹⁰⁾, 現在国内外での共同研究が進められている. 呼吸器系においては, 気胸の修復に細胞シートが有用であることが示された¹¹⁾. 上記のような単層細胞による組織再生のみならず, この細胞シートを重層化し3次元構築することにより, 心筋や肝臓の再生も行われている^{12~14)}.

図2 細胞シート移植の模式図



自己歯根膜由来細胞シートを用いた 歯周組織再生の臨床研究の開始

東京女子医科大学では、大型動物や実験室レベルでの安全性有効性を確認し、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」に合致した臨床研究として、2011年1月に厚生労働大臣より臨床研究実施の承認を得た。具体的には、患者自身の抜去歯から歯根膜幹細胞を抽出し、“細胞シート工学”を用いてシート状に回収された“自己培養歯根膜幹細胞シート”を歯周欠損の根面に移植する臨床研究を進めている。この臨床研究は“細胞シート工学”を用いることで、細胞を非破壊的にECMと共に移植することが可能である。細胞間相互作用を保持したまま移植することが可能であるため、移植した細胞が拡散することなく、移植したい場所（ここでは歯根面）に高次機能を保ったまま移植できるのが、大きな利点であると考えられる（インジェクションによる細胞治療では、酵素処理による単一細胞化の過程で細胞外基質や細胞膜上のタンパクなどの有効成分が分解されてしまう）。無菌的に細胞を培養できる“細胞プロセッシングセンター”（CPC）と呼ばれる特別な施設で作製された細胞シートは3層に重ね合わされ、郭清術の行われた歯周欠損の歯根面に設置され、骨欠損には β -三リン酸カルシウムを充填することで、付着器官の再生を促す（図2）。2014年