

硬組織の再生医工学

Tissue Engineering for Hard Tissues

(研究プロジェクト番号：JSPS-RFTF 96I00205)

プロジェクトリーダー

榎本 昭二

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科・教授

コアメンバー

石川 烈

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科・教授

四宮 謙一

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科・教授

野田 政樹

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科・教授



はじめに

高齢化社会が進むにつれ硬組織の疾患に苦しめられる人々が増えている現在、骨組織の欠損の補填は生活の質(QOL; Quality of Life)の維持のために重要である。自家骨移植に取って代わる生体吸収性の骨欠損部充填用材料の開発を目指し、中でも骨形成に最も重要な役割を果たしている骨形成タンパク質(BMP)を応用することによって、骨組織の欠損を再生することを目的とし、歯周組織、顎骨、長管骨それぞれの骨欠損部再生において研究を推進した。

1. 歯周組織の再生

現在では、ヒトの骨や人工の骨を移植する骨移植、歯根膜を誘導するために遮断膜を設置するGTR法などが、歯周組織再生治療として行われていますが、再生する量に限界がある、治るまでの期間が長い、技術的に難しいなどのことが指摘されています。歯周治療の最終目標は、失われた歯周組織を元の状態に再生させ、機能させることです。そのためには、歯根膜、セメント質、歯槽骨が新生しなくてはなりません。そこで、こうした問題を解決する手段として、細胞の分化や成長を促進するタンパクである分化成長因子の応用を試みてきました。さらには、ヒトの歯根膜を培養しシート状にして移植することも試みています(図1)。細胞の分化や成長を促進するタンパクである分化成長因子の中でも特に、骨形成促進作用が顕著な骨形成タンパク(recombinant human bone morphogenetic protein-2, rhBMP-2)を歯周組織再生治療に応用

するイヌを用いた動物実験を行ってきました。その結果、著しい歯槽骨の再生と、それに伴う歯根膜およびセメント質の再生が認められました。さらに、今後は、歯根膜の形成に重要な役割を果たしていることがわかってきているGDF-7(BMP-12)や、培養法が確立されてきた歯根膜シートなどを応用することにより歯周組織の完全な再生が可能になることが期待されます。

2. 顎骨の再生

従来より強力な骨誘導能をもつBMPに注目し、これを応用した硬組織の再生を目指し、ラットや家兎などの小動物だけでなく大型動物であるイヌでもBMPを移植することによって骨組織の再生が可能であることを明らかにしてきました。次に、臨床応用の前段階として、よりヒトに近縁なサルを使ってrhBMP-2による顎骨再建を試みました。若いサルの下顎骨に幅3cmの非常に大きな範囲で欠損を作り(図2)、チタンプレートで顎骨を固定し、担体とともにrhBMP-2を移植しました。10週後プレート除去する際には欠損部は完全に新生骨で満たされており、プレートの除去後、骨折は1例もなく全例に骨架橋が得られました。経時的に再生された下顎骨は本来の形態を示すようになり(図4)、20週後にデンタルインプラント(人工歯根)を埋入した際には完全に顎骨は再生されていました(図3)。デンタルインプラントにより咬合機能を回復させた後も、インプラントと再生骨は強固に結合しており、動揺したり、脱落した例はありませんでした。再生された骨組織

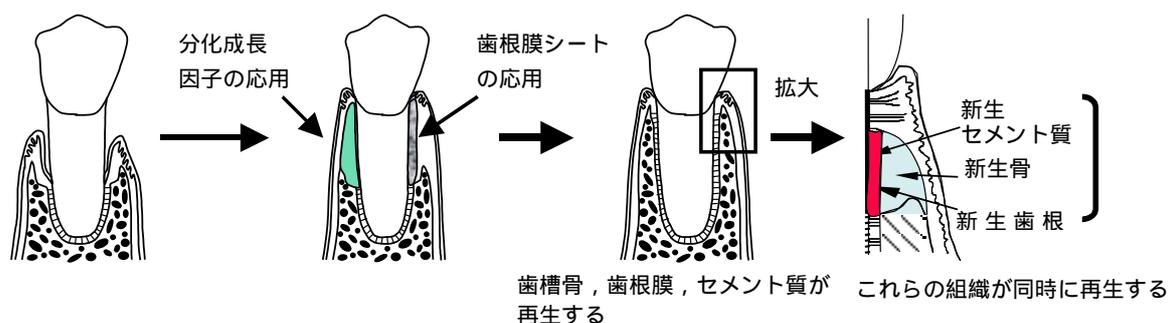


図1 歯周病によって、歯槽骨、歯根膜、セメント質が破壊された歯周組織

が約1年もの長期間にわたり機能し、維持されることが確認できました（図4）。



図2 下顎骨に設定した切除範囲
下顎骨の約3分の1の範囲を切除する。

しかし、実際の臨床の場で骨組織の再生が必要な人は高齢者が多いので、老齢なサルを使って実験をしました。その結果 rhBMP-2 によって再現性のある骨再生がみられませんでした。これは、移植部周囲の細胞の BMP に対する応答性が加齢により低下したためと考えられたので、BMP に応答し骨芽細胞へと分化する細胞を含むと考えられる骨髄を、移植量の 1 / 3 だけ混合して移植したところ確実に骨欠損が再生されることがわかりました。骨髄そのものを移植したのでは BMP を用いる最大の利点である骨を採取する侵襲を避けることができません。そこで、骨髄の中にある骨芽細胞へと分化する細胞を増やして用いることにしました。サルの顎骨からわずかな骨髄を取り出し、これを培養皿の中で増やします。増えた細胞をコラーゲンでできたビーズに貼り付けさらに培養を続けました。先ほどと同じようにサルの下顎骨に作った骨欠損に、吸収性のコラーゲンを担体とした BMP と細胞の張り付いたビーズを混ぜて移植しました。その結果、6ヶ月後、骨欠損部は新生骨で再生されていました。



図3 BMPによって再生された20週後の下顎骨

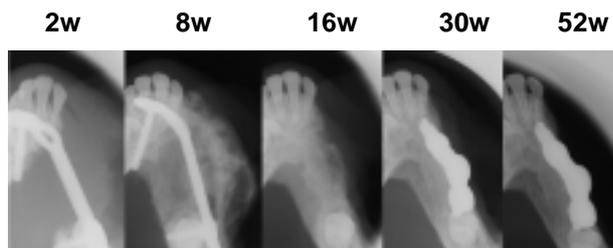


図4 BMPによって再生される下顎骨の経時的X線像
再生骨は経時的に本来の下顎骨の形態を示すようになり、インプラント埋入後も新生骨は維持されている。

培養技術を用いることによって、わずかな侵襲で BMP に反応する細胞を採取して、これを増やして移植することによって、骨髄を混合した場合と同じように顎骨を再生することが可能でした。

3. 長管骨の再生

今回開発した材料は、骨の無機成分である「ハイドロキシアパタイト」と有機成分である「コラーゲン」からできています。生体類似条件 (pH8-9、温度 40) で骨によく似た組成・構造の「骨類似・アパタイト/コラーゲン複合体」の開発に成功しました。この複合体の中では、アパタイト結晶とコラーゲンが自発的に規則正しく整列（自己組織化）し、全体として20マイクロメートル以上の長さの線維を形づくっています。このミクロな線維物質を化学架橋で互いに結合させることにより、複合体は海綿骨に匹敵する高い機械的強度を示し、化学架橋の量によって生体内の吸収速度を調節することが可能になりました。長管状骨骨欠損部への移植骨類似複合体を円柱状のインプラントに成形した後 rhBMP-2 を含浸させて、ビーグル犬の脛骨に移植しました。その結果、術後2週でインプラントの周囲に新生骨が形成され、術後8週で創外固定器を外して体重負荷が可能になり自由に運動できるようになりました。その後、12週で人工骨は完全に新生骨で覆われ、24週で骨髓腔が形成され本当の骨に変わりました（図5）。新規材料は生体内の骨代謝系に取り込まれ、破骨細胞が材料を吸収し、その横で骨芽細胞が新生骨を再生することが明らかになりました。

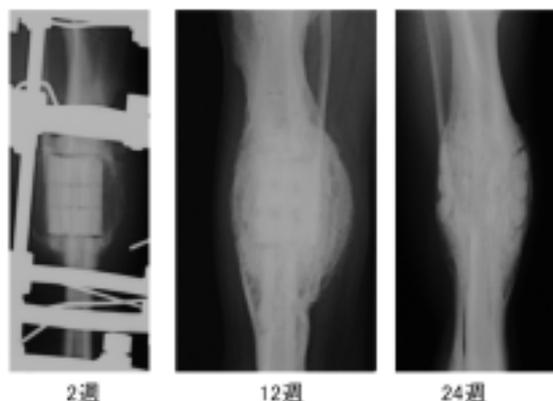


図5 術後のレントゲン写真
術後2週で新整骨が観察され、12週でインプラントと新整骨が一塊となって癒合した。24週で新整骨の成熟が進行している。