

報道解禁：平成29年3月16日午後7時  
(新聞は17日朝刊から)



岡山大学  
OKAYAMA UNIVERSITY

## PRESS RELEASE

岡山大学記者クラブ加盟各社

文部科学記者会

科学記者会

御中

平成29年3月14日

岡山大学

# イヌの歯の再生に成功 大型動物モデルにおける構造・機能的に完全な歯の再生成功により ヒトにおける完全な歯の再生治療の実現可能性を証明

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科インプラント再生補綴学分野の窪木拓男教授、大島正充助教、同研究科分子医化学分野の大野充昭助教、理化学研究所多細胞システム形成研究センターの辻孝チームリーダーらの研究グループは、器官・臓器の種となる器官原基を再生する細胞操作技術（器官原基法）を用いて、大型動物モデル（ビーグル犬）における構造的・機能的に完全な歯の再生を実証しました。

本研究成果は3月16日（英国時間午前10時、日本時間午後7時）、国際的な科学雑誌『*Scientific Reports*』に公開されます。本研究成果は、将来の歯の再生治療の実現可能性を証明するためのトランスレーショナル研究として位置づけられるものであり、分泌腺や毛髪などの多臓器にも応用可能な器官再生医療の発展につながるものとして期待されます。

### <本研究成果のポイント>

- 歯の喪失治療は、歯の生理機能を有していない人工的な代替治療が主流で、生物学的な歯の再生が望まれていた。これまで、研究グループはマウスにおける歯胚、歯周組織の器官としての再生技術「器官原基法」を開発。ヒトへの応用には、大型動物モデルでの再現が必要だった
- 今回、器官原基法を用いて、イヌの歯胚細胞においても再生歯胚の作製に成功。再生歯胚を顎骨に移植し、構造的・機能的に完全な再生歯を作ることに成功した
- 再生歯はエナメル質や象牙質の構造、歯の移動が天然歯と同等のものできた
- 大型動物モデルでの実用的な歯の再生治療を実証した

### <背景>

咀嚼や嚥下（えんげ）などの口腔機能は、国民健康やクオリティオブライフの向上に重要な役割を果たしており、高齢化社会を迎えた現代において、その機能回復の必要性が高まっています。歯や歯周組織は、口腔機能としての咬合と顎運動を担うとともに、外部からの侵害刺激を受容する知覚器官としても機能しています。歯の喪失に対する従来の歯科治療では、固定性架工義歯や可撤性床義歯、歯科用インプラントによる人工的な機能代替治療が進められてきました。これらの代替治療は、咬合機能の回復において有効であるとされているものの、生理的な歯の移動能や、侵害刺激に対する神経機能といった歯の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本当の意味での生物学的な歯の再生治療が期待されてきました。

これまでに、岡山大学大学院医歯薬学総合研究科インプラント再生補綴学分野と、理化学研究所 多細胞システム形成研究センター・器官誘導研究チームの辻孝チームリーダーらは共同研究を進め、辻らが世界に先駆けて開発した器官・臓器の種となる器官原基を再構築する細胞操作技術（器官原基法）を基に、マウスにおける歯胚や歯周組織の器官としての再生技術の開発を進めてきました。この技術はこれまでの組織再生工学（Tissue engineering）が目指した概念と異なり、上皮間葉相互作用を用いた器官の発生プロセスを完全に模倣し、器官の形態や機能を完全に再現する未来の臓器置換医療を支える基幹技術となるものです。今後、これらの技術がヒトに応用されるためには、大型動物モデルによる本技術の再現が必須と考えられてきましたが、細胞サイズの探索や細胞操作技術の最適化を含め、齧歯類以外の大型動物では実現していませんでした。



## PRESS RELEASE

### <業績>

窪木教授らの研究グループは、ビーグル犬から永久歯胚細胞を採取して、器官原基法により再構築したイヌ再生歯胚を顎骨内に移植することにより、構造的・機能的に完全な永久歯の再生を大型動物モデルで初めて実証しました。

本研究成果は、「厚生労働科学研究費補助金 再生医療実用化研究事業」(研究代表者:東京医科歯科大学(現、東京歯科大学)山口 朗教授)と、「独立行政法人日本学術振興会 科学研究費補助金 基盤研究 A」(研究代表者:窪木拓男教授)により推進されました。また研究成果の一部は、「株式会社オーガテクノロジーズ 研究補助金」により推進されたものです。

### <見込まれる成果>

本研究における成果は、大型動物による実用的な歯の再生治療の可能性を実証しており、歯科再生医療の技術開発はさらに進展したといえます。今後、再生歯胚の利用による歯科再生治療を実用化するための最大の課題は、歯胚再生を可能とする細胞シーズを取得することです。本研究においても若齢期の歯胚細胞を利用した研究であり、歯を失った成人・高齢者にも適応しうる技術とするためには、歯胚を誘導可能な幹細胞の探索が必要です。私たちは、これらの課題に取り組むことによって、臨床実用化が可能な技術となるよう研究開発を進めたいと考えています。

研究結果の詳細につきましては、下記の資料をご参照ください。

#### <お問い合わせ>

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科

インプラント再生補綴学分野

教授 窪木拓男

助教 大島正充

(電話番号) 086-235-6682

(FAX番号) 086-235-6684

PRESS RELEASE

【研究成果の内容】

1. イヌ歯胚細胞を用いた再生歯胚の作製

歯の器官原基<sup>※1</sup>である歯胚は、胎生期の上皮細胞と間葉細胞の相互作用によって発生し、特徴的な構造を形成しながら口腔内に萌出します。マウスモデルにおいて確立された「器官原基法」は、この歯胚発生プログラムを再現して歯を再生する技術であり、この細胞操作技術が、イヌ歯胚細胞においても適応可能であるかを検討しました。

初めに、胎齢 55 日のビーグル犬胎仔の顎骨から、帽状期<sup>※2</sup>に該当する第一大臼歯の永久歯歯胚を摘出する技術を確立し、マウスモデルでの歯胚再構成技術に準じて再生歯胚を作製しました。このイヌ歯胚由来細胞による再生歯胚を免疫抑制マウス<sup>※3</sup>の腎臓被膜下に移植したところ、移植 8 週目にて、天然歯と同等の組織構造を有する再生歯が発生することが明らかとなりました(図1)。

この技術を利用することにより、イヌ顎骨内に存在する乳歯歯胚においても再生歯胚の作製が可能であることも示されており、私たちの器官原基法はマウスモデル～イヌモデルにおける幅広い動物種にも適応しうる技術であり、ヒトの歯の再生技術としても有用である可能性が示唆されました。また、イヌ歯胚由来の上皮細胞と間葉細胞による再生歯の発生率は、マウスモデルと比較して低下するという課題も明確になりました。

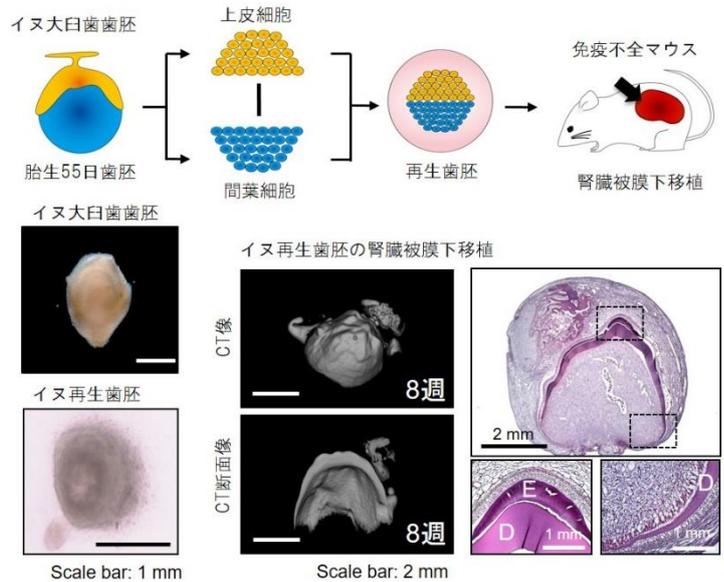


図1 イヌ歯胚細胞を用いた再生歯胚の作製

2. イヌ再生歯胚の顎骨移植による再生歯の発生解析

次に、器官原基法にて作製した再生歯胚がイヌ顎骨環境下で正常に発生し、口腔内に萌出するかどうかを解析しました。ヒトの歯の再生治療を考えた場合に、利用する歯胚細胞は、免疫学的な問題から自己口腔内から採取できることが重要です。そこで、出生後 30 日の仔犬～出生後 210 日の成犬までの下顎骨の経時的な CT 撮影を行い、再生歯胚作製の細胞シードとなる候補歯胚を探索しました。その結果から、私たちは出生後 30 日の仔犬顎骨に存在する小臼歯の歯胚が適切な細胞シードとなりうることを発見し、これらの歯胚上皮組織と歯胚間葉細胞を利用して再生歯胚を作製し、同一個体(歯胚を摘出したイヌ)に自家移植<sup>※4</sup>を行いました。経時的な CT 解析により再生歯の発生を確認したところ、移植後 60 日で歯冠の咬頭形成が確認され、移植後 180 日には再生歯が口腔内に萌出することが示されました。顎骨内に発生した再生歯は、エナメル質や象牙質、歯髓、歯周組織といった特徴的な歯の構造を有しており、天然歯と同等の歯胚発生が可能であることが実証されました(図2)。

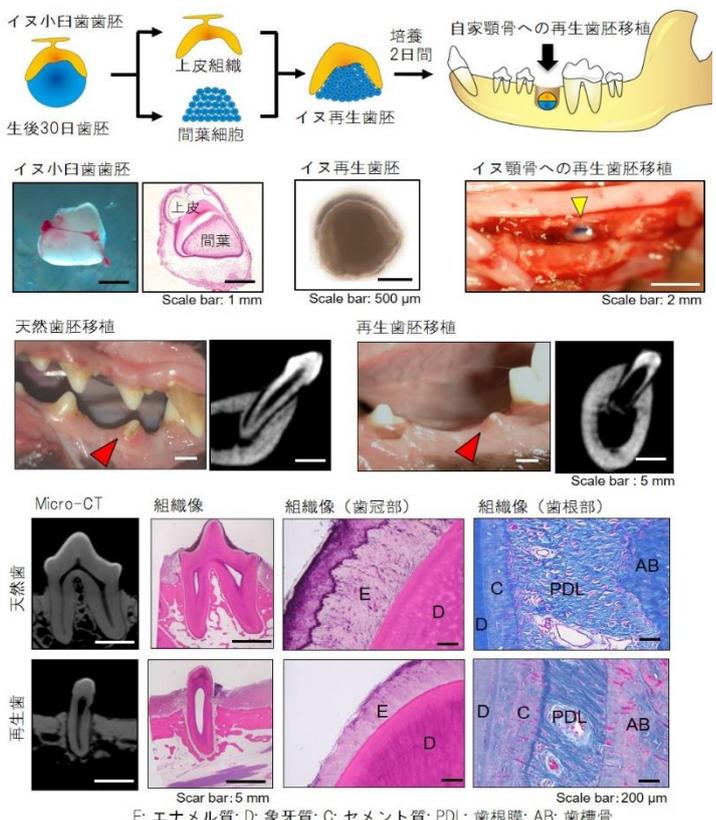


図2 イヌ再生歯胚の顎骨移植による再生歯の発生解析

## PRESS RELEASE

### 3. イヌ再生歯における硬組織微細構造の解析

歯の構成成分であるエナメル質や象牙質は、発生に付随した上皮・間葉細胞の硬組織形成により、エナメル小柱<sup>※</sup>や象牙細管<sup>※</sup>といった特徴的な微細構造を呈することが知られています。そこで、組織学的に正常な再生歯において、これらの特徴的な微細構造が存在するかを電子顕微鏡<sup>※</sup>にて解析しました。再生歯のエナメル質・象牙質ともに、天然歯と同等の硬組織微細構造が認められており、歯の硬組織の構成元素を解析したところ、炭素・リン・酸素・カルシウムといった成分比率もほぼ同等であることが明らかとなりました(図3)。

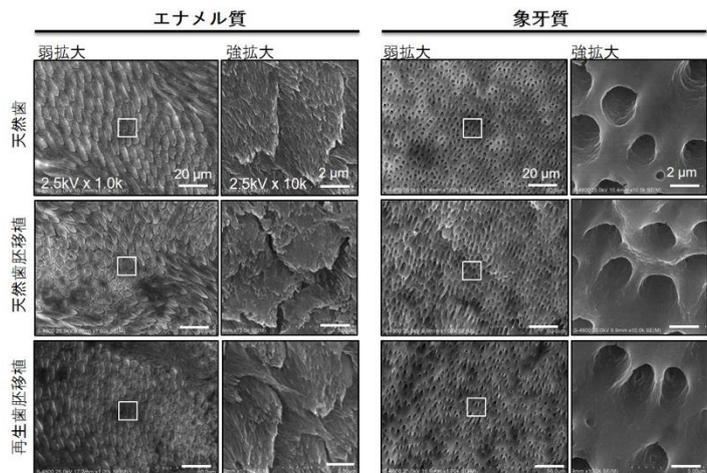


図3 イヌ再生歯における硬組織微細構造の解析

### 4. イヌ再生歯における生理機能(歯根膜機能)の解析

実用化に向けた歯の再生治療を達成するためには、再生歯が正常な組織学的構造を有することだけでなく、成体内の周囲環境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ます。歯を支える靭帯である歯根膜組織は、過剰な咬合力に対する緩衝能に加えて、機械的外力に応答した歯槽骨のリモデリング能<sup>※</sup>を有することから、歯科矯正治療における歯の移動に重要な役割を果たしています。そこで、顎骨に生着したイヌ再生歯に実験的矯正による機械的外力を加えたところ、矯正後30日にて、天然歯と同様に矯正力により再生歯が移動することが示されました(図4)。

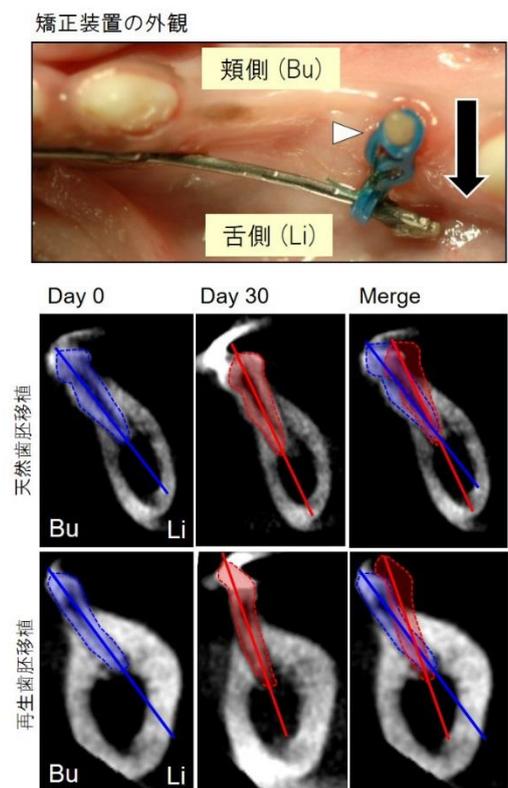


図4 イヌ再生歯における歯根膜機能の解析

#### <補足・用語解説>

※ 器官原基:

臓器・器官のもと(種)となる細胞の集合体。ほぼすべての器官は、胎児期に上皮細胞と間葉細胞の相互作用によって器官原基から発生・分化する。

※ 帽状期:

歯胚の発生過程のひとつであり、凝集した歯胚間葉細胞が歯乳頭形成し、歯胚上皮組織がエナメル器となって帽子のように包み込む状態の歯胚をいう。



## PRESS RELEASE

※<sup>35</sup> 免疫抑制マウス:

末梢血中の機能的な T 細胞および B 細胞が欠失し、免疫不全症を呈するマウス。同種異系統移植や異種移植による実験・解析が可能なマウス。

※<sup>34</sup> 自家移植:

個体の組織(自家移植片)を同一の個体に移植すること。他家移植と区別され、生体反応としての免疫拒絶を受けない安全な移植方法であり、移植医療の第一選択とされる。

※<sup>36</sup> エナメル小柱:

エナメル質の基本構造であり、ハイドロキシアパタイトの結晶塊が密に集合した物質。

※<sup>36</sup> 象牙細管:

象牙質全体を走る細管構造であり、象牙芽細胞の突起を中に含んでおり、象牙質の形成ならびに維持を行うとされている。

※<sup>37</sup> 電子顕微鏡:

観察したい対象に電子をあてて拡大する顕微鏡のこと。高分解能の解析が可能であり、電子線の利用・観察方法によって、走査型と透過型の大きく2種類に分類される。

※<sup>38</sup> リモデリング能:

骨の代謝を行う能力のこと。歯科矯正力による外部応力に反応して、破骨細胞による骨吸収と、骨芽細胞による骨代謝が局在をもって繰り返されることにより歯の移動がなされる。

### <採択研究費について>

●厚生労働省・厚生科学研究費補助金、再生医療実用化研究事業

「実験的再生歯の臨床応用に関する研究」平成 21-23 年度

研究代表者:東京医科歯科大学 山口 朗 教授(現 東京歯科大学)

●独立行政法人日本学術振興会 科学研究費補助金 基盤研究(A)

「発生メカニズムに立脚した生物学的歯根再生技術の開発」平成 22-25 年度

研究代表者:窪木拓男 教授

●独立行政法人日本学術振興会 科学研究費補助金 基盤研究(A)

「歯胚発生プログラムの解明・応用に基づく歯の再生技術の開発」平成 26-29 年度

研究代表者:窪木拓男 教授

●株式会社 オーガンテクノロジーズ 研究補助金

所在地:〒105-0001 東京都港区虎ノ門 4-1-21

代表取締役:杉村 泰宏

ホームページ:<http://www.organ-technol.co.jp/>

主な事業概要:

- 再生医療向け医薬品および材料の製造・販売および輸出入
- 治療用細胞、組織、器官の受託製造、販売、および輸出入
- 医療用機械器具、医療用具、産業用機械器具、家庭用機器の製造、販売、輸出入、賃貸借および保守
- 移植及び再生医療の研究開発および技術移転
- 医療に関連する各種科学的検査および研究開発





## PRESS RELEASE

### <発表論文情報>

タイトル： Practical whole-tooth restoration utilizing autologous bioengineered tooth germ transplantation in a postnatal canine model.

著者： Mitsuaki ONO\*, Masamitsu OSHIMA\*, Miho OGAWA, Wataru SONOYAMA, Emilio Satoshi HARA, Yasutaka OIDA, Shigehiko SHINKAWA, Ryu NAKAJIMA, Atsushi MINE, Satoru HAYANO, Satoshi FUKUMOTO, Shohei KASUGAI, Akira YAMAGUCHI, Takashi TSUJI and Takuo KUBOKI†

掲載誌： *Scientific Reports*

D O I： 10.1038/srep44522 (2017)

発表論文はこちらからご確認いただけます。

<http://www.nature.com/articles/srep44522>



窪木拓男 教授



大野充昭 助教



大島正充 助教



辻 孝 グループリーダー