

顎骨再生研究のこれまでと今後

西村正宏

Alveolar bone regeneration- now and then

Masahiro Nishimura, DDS, PhD

抄 録

顎骨の再生は難症例補綴治療を一般化させ、治療の予知性を高めることにつながる。しかし、顎骨の安全・確実な再生を実現するためには各種法律にのっとり、正確なエビデンスに基づいて綿密なプロトコルを立案したり、移植剤の製造法を確立したりしなければならない。本邦では歯科領域で多くの血液濃縮液を用いた再生医療が提供されていることから、再生医療のニーズが高いことが伺える。著者らはこれまでに顎骨骨髓由来の間葉系幹細胞の脂肪分化能の低さの原因や、移植する細胞の生体内での各種骨形成予測マーカーを特定してきた。著者らは特殊な細胞シートと骨補填剤を組み合わせた新規骨再生剤を開発し、臨床現場への展開を目指している。

キーワード

顎骨骨髓間葉系幹細胞, 間葉系間質細胞, 再生医療, 骨増生, 骨形成

ABSTRACT

Alveolar ridge augmentation can generalize difficult prosthetic treatment and improve the predictability of treatment. However, in order to realize safe and reliable regeneration of the alveolar ridge, detailed protocols must be drawn up in accordance with various laws and based on accurate evidence, and manufacturing methods for transplantation agents must be established. The fact that many regenerative medicines using blood concentrates are provided in the field of dentistry in Japan indicates that there is a high need for regenerative medicine. The authors have previously identified the causes of the low adipogenic differentiation potential of mesenchymal stem cells derived from jawbone marrow and various predictive markers of bone formation in vivo for transplanted cells. The authors have developed a novel bone regenerative agent that combines specialized cell sheets with scaffolds, with the aim of applying it to clinical practice.

Key words:

Alveolar bone marrow derived mesenchymal stem cells, Mesenchymal stromal cells, Regenerative medicine, Bone augmentation, Bone regeneration

1. はじめに

補綴とは身体器官の喪失によって損なわれた形態と機能を人工装置によって修復・整形することとされているが、山中教授がiPS細胞でノーベル賞を受賞されて以来、日本は国策として再生医療を推し進めていることから、これからの歯科医療全体が再生医療の技

術も含めた時代に移っていくことは容易に想像される。2040年への歯科イノベーションロードマップにおいても、新規治療法や新規材料・機器において「再生」というワードが多用されていることから、歯科補綴の領域においてもこういった技術をしっかりと取り込み、新たな医療の開発を進めていくことが今後の

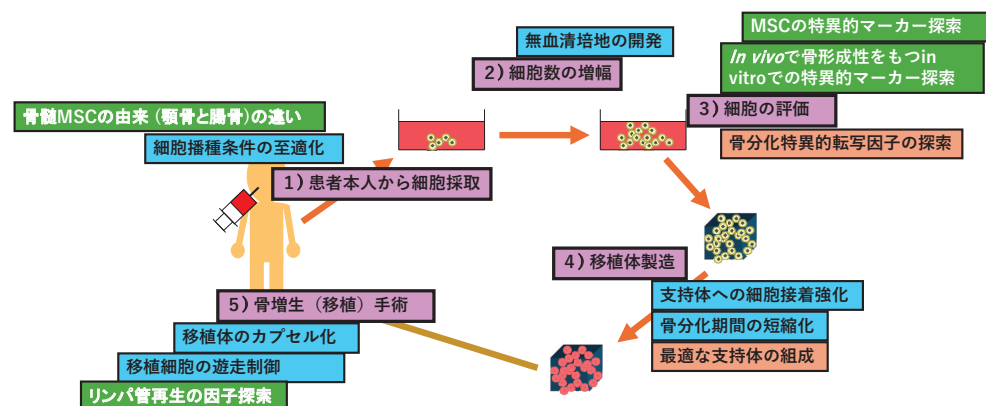


図 1 確実な骨再生医療を実現するためのスキーム

発展に必要であろう。私は大学病院での補綴科に来院する患者で、委縮した顎堤によって補綴治療が困難となったり、不足した顎堤によってインプラント埋入が困難になったりする症例を目の当たりにし、補綴治療を容易かつ、再現性良く実施するための前処置として、顎骨の再生治療が必要であることを強く認識するようになった。そこで 2000 年頃から間葉系幹細胞（以下 MSC）を用いた骨再生の研究に取り組んできたので、その一端を紹介していく。

2. 再生医療を取り巻く法的環境

我が国の再生医療を国民が迅速かつ安全に受けられるようにするために、再生医療等安全性確保法（以下、安確法）が平成 26 年に施行され、再生医療はそのリスクに応じて、第 1 種、第 2 種、第 3 種に分類され、それぞれの必要な委員会の承認はもとより、厚生労働省または地方公正局への再生医療等提供計画の提出が必要となった。安確法は医療技術の提供に関する法的規制であるが、同時に医薬品医療機器法も同年に改正され、再生医療等製品の治験や製品の流通に関する法的規制も整備された。つまり、患者の自己細胞を用いた骨再生医療を提供する場合には、安確法の第 2 種に基づいた自由診療を計画するか、提供しようとする材料の製造法を取り決めて治験を行って製品として国に販売許可を得る必要がある¹⁾。いずれにせよ、確実に骨を「生体内で」形成するためには、必要な細胞のマーカーを決定したり、培養方法を確立したり、移植体の製作プロトコルを決定したりして根拠のある医療を提供する必要がある。MSC は体のあらゆるところから培養されているが、顎骨の MSC に関する情報は極めて少なく、患者の MSC を用いるのであれば、その細胞の表現型についてエビデンスを積み上げていく必要がある。確実な骨再生医療を実現するためには数

多くの研究スキームが必要であり、私の研究グループで行ってきた研究の項目をこのスキームに当てはめると図 1 のようになる。

3. 細胞の必要性

再生医療を実現するためには、目的組織を構成する細胞に分化可能な細胞とそれを支持する担体 / 支持体が欠かせず、移植サイトの場の環境（niche）と再生するための時間、そして適切な成長因子が必要になる。周囲が骨で囲まれた小範囲の部位の顎骨を再生する目的であれば、現在の臨床でも使われている骨補填材・人工骨でもある程度は骨が形成され、臨床的にも一定の成績が得られている。細胞を移植するためにはその培養や加工などのプロセスと費用が必要であるため、費用対効果を考えて必要に応じた骨再生方法を用いることになる。再生すべき範囲が大きい場合や、高齢患者で骨が委縮しているような細胞が少ない場所では、骨補填材あるいは骨補填材に成長因子を組み合わせたとしても再生効果は限定的と考えられる。実際にラットの頭頂骨上に β -TCP のみを移植した部位と、近交系ラットの大腿骨から採取した MSC と β -TCP を同時移植した部位を比較したところ、MSC を添加した部位には明らかに強い骨形成が見られた（図 2）。そこで、骨を外側性に増生するような場合には生きた細胞の必要性を強く認識することとなった。

4. ヒト顎骨骨髓間葉系幹細胞の解析の困難さ

口腔内には歯科医にとって採取容易な MSC を含む組織が多くあるが、我々は、現実的には顎骨の骨髓が誰からも得られる細胞ソースだと考えている²⁾。我々は世界で初めて顎骨骨髓中の MSC の分化能を検討し、これが腸骨由来 MSC と匹敵する骨分化能を持つことを報告した³⁾。顎骨と比べた腸骨由来 MSC の表現型

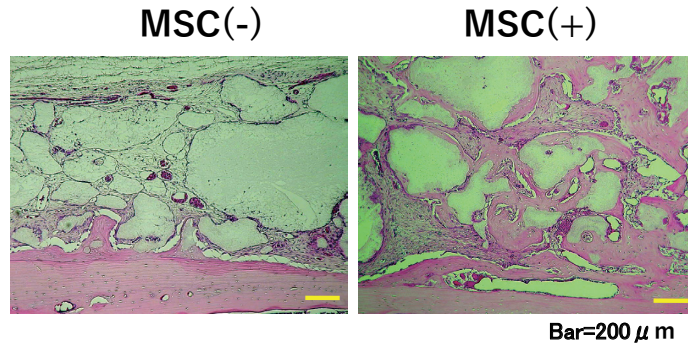


図2 細胞の骨形成効果. ラット頭頂骨上への β -TCPのみを移植した場合(左)と、近交系ラットの大腿骨から採取した間葉系幹細胞と β -TCPを同時移植した場合(右)の移植4週後の組織像(H&E染色)

を比較した研究はいくつかあるが、2015年までに発表された研究については、拙著を参考にいただきたい⁴⁾。近年の網羅的解析によって、顎骨(マウスだが)骨髄中には骨形成性の細胞が6画分も存在していることが判明し、それぞれの細胞の解析も進んでいる⁵⁾。このように「マウス」の顎骨骨髄内の細胞の表現型は明らかになりつつあるが、「ヒト」の顎骨骨髄MSC(以下顎骨MSC)、特に再生医療に用いるための表現型についてはほとんど明らかになっていない。それは、ヒトの顎骨MSCの安定的な採取と培養が困難であるからであろう。

5. ヒト顎骨骨髄間葉系幹細胞の表現型解析

ビーグル犬の顎骨萎縮部位に、自己顎骨MSCを用いた顎骨増生モデルにおいても骨が形成される場合と形成されない場合があることがあり、顎骨MSCを用いた細胞治療には不安定性が残っている⁶⁾。そもそも顎骨MSCは再生医療に使えるのか？そもそも、ヒトの「顎骨」骨髄MSCと「腸骨」骨髄MSCは何が違うのか？という疑問を解決するため、我々はまず顎骨MSCの幹細胞マーカの探索を行った。私の属していた研究グループでは、2007年に脛骨、腸骨、顎骨の骨髄由来のMSCと線維芽細胞との間、さらにそのMSCの継代数や患者年齢の違いの間での遺伝子発現の違いを検討し、LIF, IGF1, PRG1, MGP, BMP4, CTGF, KCTD12, IGFBP7, TRIB2, and DYNC111の組み合わせが多分化能を持つ骨髄MSCの信頼できるマーカーとして提案していた⁷⁾。しかし、顎骨MSCの特異的なマーカーの同定には至っていなかった。骨髄由来MSCの特徴として、脂肪分化能が低いことはわかっていたため³⁾、我々はそのメカニズムについて詳しく解析を行った。その結果、顎骨骨髄MSCは早期の脂肪分化制御因子(C/EBP δ , C/EBP δ , Ebf1,

KLF5)も、後期の脂肪分化制御因子(C/EBP α , PPAR γ)も腸骨骨髄MSCに比較して発現量が低いことが判明した⁸⁾。さらに、顎骨MSCは腸骨骨髄MSCに比較してROSの産生量が低く、ROS発現酵素であるNOX4の発現量も低いことが判明した⁹⁾。我々は更に多くの患者から顎骨MSCを採取し、腸骨骨髄MSCと特徴的に異なる細胞表面マーカーが無いかを探索した。その結果、線維芽細胞には強く発現するCD10が腸骨骨髄MSCには発現していないことを見出した。また、骨分化能の低い顎骨MSCは骨分化能の高い顎骨MSCよりもCD10の陽性率が高いことがわかった。さらにCD10を高発現する顎骨MSCから分泌されるサイトカインを検索したところ、TIMP1を多く発現する顎骨MSCは、骨分化が抑制されていることがわかった¹⁰⁾。つまり、顎骨MSCの骨分化能を予測するマーカーとしてCD10あるいはTIMP-1が候補となる可能性が示された。

このように顎骨MSCの*in vitro*での表現型や骨分化能を予測するマーカーがわかってきたが、どのような顎骨MSCが*in vivo*では骨を形成しやすいのか？については謎が残っていた。実際、我々の以前の研究から、2種類のヒトの顎骨MSCを免疫不全マウスの頭頂骨に移植し、その細胞の*in vitro*での骨分化能と*in vivo*での骨形成能を検討したところ、*in vitro*では必ずしも高い骨分化能を示さなかったヒト顎骨MSCが、*in vivo*では高い骨形成能を示すことが示されていたからだ¹¹⁾。そこで我々は、*in vitro*でさまざまな骨分化能をもつ顎骨MSCの培養上清を集めてその培養上清中のさまざまな因子を網羅的に解析する一方、その顎骨MSCを免疫不全マウスに移植して、*in vivo*での骨形成量を組織学的に計測し、*in vitro*で培養した際の培養上清中の因子との相関性を検討した¹²⁾。その結果、CHI3L1(Chitinase 3-like 1)を培

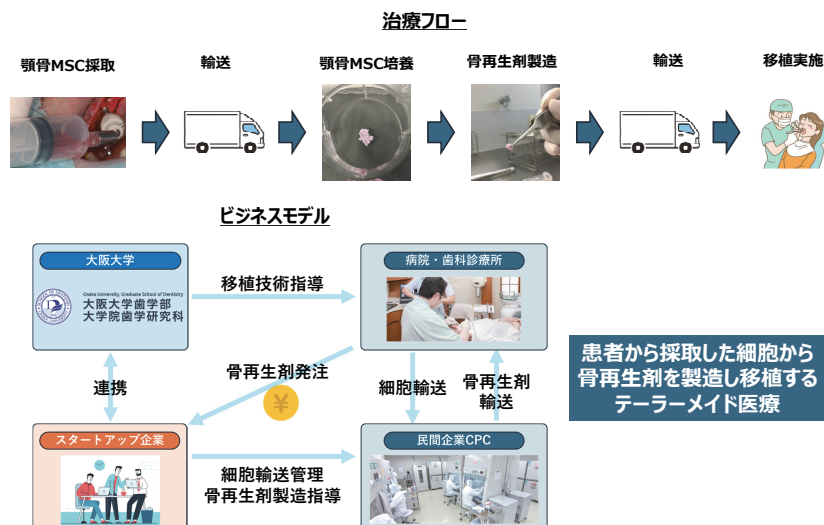


図3 骨再生剤を用いた顎骨再生治療のフローとビジネスモデル

養時に多く分泌する顎骨 MSC を移植すると、生体内では骨形成能が低く、逆に CHI3L1 の発現量の低い顎骨 MSC を移植すると生体内で旺盛に骨を形成する傾向があることが判明した。CHI3L1 は、YKL-40 と呼ばれる糖タンパク質で、キチンとヘパリンに結合し、細胞接着、細胞増殖および腫瘍の血管新生を増強することは知られていたが、間葉系幹細胞の骨形成能における役割は未知であった。CHI3L1 は顎骨 MSC の生体内での骨形成性を予測できるマーカーとして使える可能性が見出された。さらに近年では、CHI3L1 の受容体が活性化されると破骨細胞の分化が促進されることも見出され¹³⁾、CHI3L1 の骨形成における役割が見えてきた。

6. ヒト顎骨骨髓間葉系幹細胞の動きを制御する因子の探索

間葉系幹細胞を膝関節欠損モデルに移植すると、2週間後に移植部位から 6 mm 以上離れた部位に移植した MSC が存在していたという報告もあることから¹⁴⁾、移植した細胞をその場に留まらせる、あるいは細胞の動きを制御する因子の同定が求められていた。我々がさまざまなサイトカインを検討した中では、間葉系幹細胞を遊走させる能力が高い順に、PDGF-BB、HB-EGF、PDGF-AB、TGF- α 、EGF、Thrombin、bFGF、IGF-I、HGF であることがわかった¹⁵⁾。この研究ではウサギ大腿骨とヒトの腸骨骨髓 MSC を用いていたため、次に PDGF-BB のヒト顎骨 MSC に対する影響を検討した¹⁶⁾。その結果、PDGF-BB はヒト顎骨 MSC の増殖や骨分化には影響しなかったが、遊走能を促進させた。また PDGF-BB はヒト顎骨 MSC の

Akt シグナル伝達を活性化し、Akt シグナル伝達の阻害は PDGF-BB 誘発性 Akt 活性化とヒト顎骨 MSC の遊走能を明確に抑制した。つまりヒト顎骨 MSC と PDGF-BB の同時移植はヒト顎骨 MSC の拡散を抑制し、その骨形成能力を高められることが示唆される。

7. 移植体作製

前記のようなサイトカインと顎骨 MSC との同時移植も骨形成能力の強化に有効と考えられるが、細胞をどのようにして移植するのが良いのか？についてもさまざまな方法が考えられる。我々も以前は細胞を増殖させた後に、トリプシン/EDTA で細胞層を剥離・分解してから細胞を骨補填材と混ぜて移植していたが、その方法が細胞が死滅したり拡散したりして治療成績が不安定化する原因となっていた。実際、世界的には細胞を凝集させてスフェロイド状にして移植する方法や¹⁷⁾、細胞を生体材料に付着させて三次元的な構造体として移植する方法¹⁸⁾などが考えられている。そこで我々は細胞を高密度で培養してからその細胞層で骨補填材を被包する方法を考案した(骨再生又は再生用複合体及びその製造方法：特願 2023-102016)。この方法で骨再生剤を製造すれば、複雑な形の骨欠損にも容易に対応でき、安定的に骨を形成することが可能となる。今後、我々は顎骨 MSC の採取から骨再生剤製造から移植までのフローを完成させ、スタートアップ企業を設立して民間細胞培養施設とも連携し、各地の病院・歯科診療所で、「患者から採取した細胞から骨再生剤を製造し移植するテーラーメイド医療」の確立を目指す(図3)。

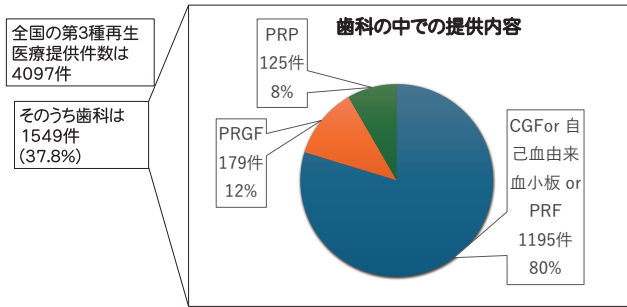


図4 第3種【治療】全国再生医療提供状況のうち、歯科関連治療の提供割合。

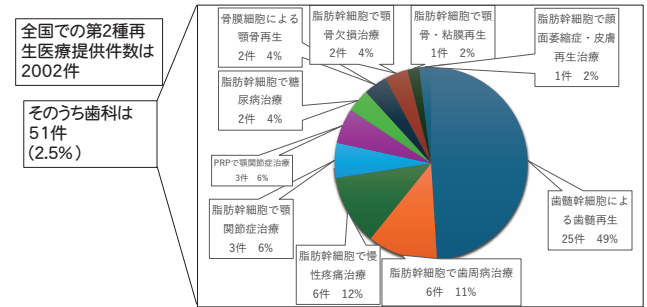


図5 第2種【治療】全国再生医療提供状況のうち、歯科関連治療の提供割合。

厚生労働省 再生医療等提供機関一覧（治療）からの再生医療提供状況（2025年1月末調べ）。
<https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000186471.html> より著者作成

8. 現在行われている顎骨の再生医療

安確法の施行後、日本のすべての再生医療は届け出が必要となったからこそ、その全貌が明らかになり、再生医療提供内容によってはその内容と質が問題視されている¹⁹⁾。日本再生医療学会は、安確法の下で提供される治療を、検証型診療「科学的に正当な治療」と、無検証診療「十分な科学的検証を経ない治療」を明確に区別していく必要があるとする「YOKOHAMA宣言2025」を採択した。全国第3種再生医療提供件数は4,097件（2025年1月末調べ）であり、実にその約4割が歯科による提供である。その提供内訳を調べると、CGF、自己血由来血小板、PRFといった抗凝固剤を含まずに血液を遠心分離して血球以外の部分を用いる治療が8割、PRGFが12%、PRPが8%であった（図4）。つまり日本の医科・歯科全体で提供される再生医療の約4割もが歯科で行われていることは、歯科医療における再生医療の必要性の高さを表していると言えよう。全国第2種再生医療提供件数は2,002件（2025年1月末調べ）であり、歯科による提供は2.5%に過ぎなかった。その内訳は歯髄の再生、歯周病治療、慢性疼痛治療、顎関節症治療、顎骨再生など多岐にわたる（図5）。一方で、これらが「検証型診療」なのか「無検証診療」なのかは不明である。幹細胞を用いる第2種再生医療の提供数が歯科において極端に少ないことは、その費用対効果の低さか、供給可能な検証された再生医療等製品・医療機器の少なさが主要因ではないかと考えられる。

9. 顎骨再生医療の今後の展望

再生医療技術はその進化に伴い、第一世代から第三世代にわたる段階を経て発展している（図6）。第一世代は骨補填材の移植による再生法であり、安価かつ

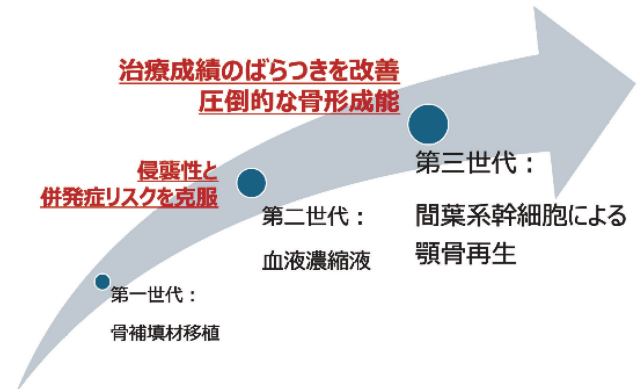


図6 各世代の顎骨再生技術

迅速に行うことができるが、外側性の骨造成は困難であるため、自家骨を採取して混和する際には、採骨の侵襲性や併発症が伴う。第二世代は前項で説明した血液濃縮液を利用した治療法で、この方法は低侵襲である点が評価され、臨床現場にも多く導入されているが、血液の濃縮方法により治療効果にばらつきが生じ、また患者の健康状態に依存しやすいため、効果が安定しないという課題がある。第三世代は、間葉系幹細胞等の体性幹細胞を用いた顎骨再生技術である。間葉系幹細胞は腸骨骨髓、脂肪組織、歯髄などから採取されているが、我々は顎骨から直接幹細胞を採取することが侵襲性が低く、患者の負担を大幅に軽減できる点と、顎骨MSCは他部位由来の幹細胞よりも骨分化能が高いことを確認していることから、顎骨再生において優れた治療成績を期待している。しかし自己由来細胞の使用は治療の迅速性に劣り、コスト高となるため、今後は他人の良質な間葉系幹細胞を大量にプールし、必要に応じて提供する方向も考えられる。なぜならば間葉系幹細胞は免疫寛容能が高く²⁰⁾、GVHD（移植片

対宿主病) の治療に既に臨床応用されているからである²¹⁾。さらには今後、iPS 細胞の安全性が担保されれば、細胞ソースを間葉系幹細胞から iPS 細胞に置き換えることができるかもしれない。そうすれば、使用細胞を変更するだけでより安いコストで再生医療を提供できるようになるかもしれない。

追記 2025 年 6 月に、日本再生医療学会より、「間葉系幹細胞」という用語を「間葉系間質細胞」に統一する旨の提言があったが、本誌執筆時点ではまだその提言が把握されていなかったため、間葉系幹細胞との表現を使用していることをご容赦いただきたい。

文 献

- 1) 末廣史雄, 西村正宏. 補綴医に贈る再生医療の話. 日補綴会誌 2018; 10: 105-10.
- 2) Nishimura M, Takase K, Suehiro F, Murata H. Candidates cell sources to regenerate alveolar bone from oral tissue. *Int J Dent* 2012; 2012: 857192.
- 3) Matsubara T, Suardita K, Ishii M, Sugiyama M, Igarashi A, Oda R et al. Alveolar bone marrow as a cell source for regenerative medicine: differences between alveolar and iliac bone marrow stromal cells. *J Bone Miner Res* 2005; 20: 399-409.
- 4) 西村正宏. 歯科臨床のための顎骨の再生・増生の科学. 東京: 医学情報社; 2015, 1-87.
- 5) Jin A, Xu H, Gao X, Sun S, Yang Y, Huang X et al. ScRNA-Seq reveals a distinct osteogenic progenitor of alveolar bone. *J Dent Res* 2023; 102: 645-55.
- 6) Nishimura M, Sakai Y, Suehiro F, Tsuboi M, Kamada K, Hori T et al. Interface, implant, regenerated bone and recipient alveolar bone. Tokyo: Springer; 2010, 119-22.
- 7) Igarashi A, Segoshi K, Sakai Y, Pan H, Kanawa M, Higashi Y et al. Selection of common markers for bone marrow stromal cells from various bones using real-time RT-PCR: Effects of passage number and donor age. *Tissue Engineering* 2007; 13: 2405-17.
- 8) Miyata H, Ishii M, Suehiro F, Komabashiri N, Ikeda N, Sakurai T et al. Elucidation of adipogenic differentiation regulatory mechanism in human maxillary/mandibular bone marrow-derived stem cells. *Arch Oral Biol* 2023; 146: 105608.
- 9) Ikeda N, Ishii M, Miyata H, Nishi Y, Suehiro F, Komabashiri N et al. Role of reactive oxygen species (ROS) in the regulation of adipogenic differentiation of human maxillary/mandibular bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Mol Biol Rep* 2023; 50: 5733-45.
- 10) Sakurai T, Ishii M, Miyata H, Ikeda N, Suehiro F, Komabashiri N et al. Effect of CD10-positive cells on osteogenic differentiation of human maxillary/mandibular bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Arch Oral Biol* 2025; 170: 106135.
- 11) 西村正宏, 末廣史雄, 黒木唯文, 坂井裕大, 朝比奈 泉. 骨増生に向けた顎骨骨髓液採取と間質細胞培養法. 日口腔インプラント誌 2013; 26: 668-75.
- 12) Komabashiri N, Suehiro F, Ishii M, Nishimura M. Efficacy of chitinase-3-like protein 1 as an in vivo bone formation predictable marker of maxillary/mandibular bone marrow stromal cells. *Regen Ther* 2021; 18: 38-50.
- 13) Xu W, Chao R, Xie X, Mao Y, Chen X, Chen X et al. IL13Ralpha2 as a crucial receptor for Ch311 in osteoclast differentiation and bone resorption through the MAPK/AKT pathway. *Cell Commun Signal* 2024; 22: 81.
- 14) Quintavalla J, Uziel-Fusi S, Yin J, Boehnlein E, Pastor G, Blancuzzi V et al. Fluorescently labeled mesenchymal stem cells (MSCs) maintain multilineage potential and can be detected following implantation into articular cartilage defects. *Biomaterials* 2002; 23: 109-19.
- 15) Ozaki Y, Nishimura M, Sekiya K, Suehiro F, Kanawa M, Nikawa H et al. Comprehensive analysis of chemotactic factors for bone marrow mesenchymal stem cells. *Stem Cells Dev* 2007; 16: 119-29.
- 16) Oura Y, Ishii M, Miyata H, Ikeda N, Sakurai T, Suehiro F et al. Evaluation of the effect of platelet-derived growth factor-BB on the biological activity of human mandibular bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Arch Oral Biol* 2025; 174: 106244.
- 17) Langenbach F, Berr K, Naujoks C, Hassel A, Hentschel M, Depprich R et al. Generation and differentiation of microtissues from multipotent precursor cells for use in tissue engineering. *Nat Protoc* 2011; 6: 1726-35.
- 18) Zujur D, Kanke K, Lichtler AC, Hojo H, Chung UI, Ohba S. Three-dimensional system enabling the maintenance and directed differentiation of pluripotent stem cells under defined conditions. *Sci Adv* 2017; 3: e1602875.
- 19) Ikka T, Fujita M, Hatta T, Isobe T, Konomi K, Onishi T et al. Difficulties in ensuring review quality performed by committees under the Act on the Safety of Regenerative Medicine in Japan. *Stem Cell Reports* 2023; 18: 613-7.
- 20) Zhou J, Shi Y. Mesenchymal stem/stromal cells (MSCs): origin, immune regulation, and clinical applications. *Cell Mol Immunol* 2023; 20: 555-7.
- 21) Le Blanc K, Rasmusson I, Sundberg B, Gotherstrom C, Hassan M, Uzunel M et al. Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells. *Lancet* 2004; 363: 1439-41.

著者連絡先: 西村 正宏

〒 565-0871 大阪府吹田市山田丘 1-8

Tel: 06-6879-2951 (教授室)

Fax: 06-6879-2947

E-mail:

nishimura.masahiro.dent@osaka-u.ac.jp