

間葉系幹細胞を用いた顎骨骨再生医療の開発

研究概要

1. 目的

体の骨格をなす骨が不足して生活の質の低下を余儀なくされている患者は計り知れない。特に口腔領域では骨が無くなると最初に歯が喪失し、その後の歯科治療の選択幅も極端に狭くなり、日常生活に支障が生じる。そこで本研究では骨を再生、特に既存骨の上に盛り上げるための骨増生治療を確立することを目的とする。近年中に臨床研究を開始し、臨床応用へ移行したい。

2. 背景

本研究を主導する西村正宏はこれまで、広島大学口腔生化学教室の加藤幸夫教授や口腔保健工学の二川浩樹教授らと共同で間葉系幹細胞を用いた細胞治療の事業化に向けて科学技術振興機構等の各プロジェクトを経て多くの特許申請を行ってきた。一方、近年では高齢者の増加と歯周病患者の増加により、インプラントを埋入するために骨を増生させるニーズは非常に高い。しかし、最適な担体や移植細胞の制御方法について検討されていない。本研究の遂行には民、官、学の連携と多分野の学問知識が必要である。そこで本 website を通じて大学を中心とした多分野の方々にこの骨増生医療の必要性が広まり、実現化に向けて協力を頂ければ幸いである。本研究の遂行により歯科領域で骨増生のみならず、骨の足りない様々な病気に対して新たな骨再生医療を提供し、国民の生活の質の向上に少しでも貢献できればと考える。

3. 主な研究成果

我々は2006年に自己顎骨由来の間葉系幹細胞と骨補填用担体を組み合わせて、実際のイヌの無歯顎堤を増大させることに成功した。これは骨量の足りない患者へ、患者の別の部分を傷つけることなく低侵襲に骨幅や高さを増やす技術として有望である。例えば歯を失った際に、インプラントを埋入しようとしても骨量が足りないために自家骨移植を行わなければならない症例に有効である。これまでイヌの無歯顎堤を増大させた後に実際に臨床で使うインプラントを埋入して、インプラントと骨が癒着する状態も確認している。近年の基礎研究として以下のような成果がある。最近、鹿児島大学ではミニブタを使った前臨床試験も実施中である。

4. 本研究に関する主な論文発表

1. Yan W, Pan H, Ishida H, Nakashima K, Suzuki F, **Nishimura M**, Jikko A, Oda R, Kato Y: Effects of Concanavalin A on Chondrocyte Hypertrophy and Matrix Calcification. J Biol Chem, 272: 7833-7840, 1997.
2. Matsubara T, Tsutsumi S, Pan H, Hiraoka H, Oda R, **Nishimura M**, Kawaguchi H, Nakamura K, Kato Y: A new technique to expand human mesenchymal stem cells using basement membrane extracellular matrix, Biochem Biophys Res Com, 313:503-508, 2004.
3. Nishimura H, **Nishimura M**, Oda R, Yamanaka K, Matsubara T, Ozaki Y, Sekiya K, Hamada T, Kato Y: Lectins induce resistance to proteases and/or mechanical stimulus in

all examined cells – including bone marrow mesenchymal stem cells – on various scaffolds, *Exp Cell Res*, 295 : 119-127, 2004.

4. Matsubara T, Suardita K, Ishii M, Sugiyama M, Igarashi A., Oda R, **Nishimura M**, Saito M, Nakagawa K, Yamanaka K, Miyazaki K, Shimizu M, Bhawal U, Tsuji K, Nakamura K, Kato Y: Alveolar Bone Marrow as a Cell Source for Regenerative Medicine: Differences between Alveolar and Iliac Bone Marrow Stromal Cells, *J Bone Mineral Res*, 20 : 399-409, 2005.
5. Hasegawa N, Kawaguchi H, Hirachi A, Takeda K, Mizuno N, **Nishimura M**, Koike C, Tsuji K, Iba H, Kato Y, Kurihara H: Behavior of transplanted bone marrow-derived mesenchymal stem cells in periodontal defects, *J Periodontol*, 77 (6) : 1003-1007, 2006.
6. Ozaki Y, **Nishimura M**, Sekiya K, Suehiro F, Kanawa M, Nikawa H, Hamada T, Kato Y: Comprehensive analysis of chemotactic factors for bone marrow mesenchymal stem cells, *Stem Cells Develop*, 16(1) : 119-129, 2007.
7. Okazaki T, Magaki T, Takeda M, Kajiwara Y, Hanaya R, Sugiyama K, Arita K, **Nishimura M**, Kato Y, Kurisu K: Intravenous administration of bone marrow stromal cells increased survivin and Bcl-2 protein expression and improves sensorimotor function following ischemia in rats, *Neurosci Lett*, 430 : 109-114, 2008.
8. Sekiya K, **Nishimura M**, Suehiro F, Nishimura H, Hamada T, Kato Y: Enhancement of osteogenesis by concanavalin A in human bone marrow mesenchymal stem cell cultures, *Int J Art Org*, 31 (8) : 708-715, 2008.
9. Kubo H, Shimizu M, Taya Y, Kawamoto T, Michida M, Kaneko E, Igarashi A, **Nishimura M**, Segoshi K, Shimazu Y, Tsuji K, Aoba T, Kato Y: Identification of mesenchymal stem cell (MSC)-transcription factors by microarray and knockdown analyses, and signature molecule-marked MSC in bone marrow by immunohistochemistry: *Genes Cells*, 14 (3), 407-424, 2009.
10. Ikeda H, Sumita Y, Ikeda M, Okumura T, Sakai E, **Nishimura M**, Asahina I: Engineering Bone Formation from Human Dental Pulp- and Periodontal Ligament-Derived Cells, *Ann Biomed Eng*, 39, 26-34, 2010.
11. Suehiro F, **Nishimura M**, Kawamoto T, Kanawa M, Yoshizawa Y, Murata H, Kato Y: Impact of Zinc Fingers and Homeoboxes 3 (ZHX3) on the Regulation of Mesenchymal Stem Cell Osteogenic Differentiation, *Stem Cells Develop*, 20(9), 1539-1547, 2011.
12. Makihira S, Nikawa H, Shuto T, **Nishimura M**, Mine Y, Tsuji K, Okamoto K, Sakai Y, Sakai M, Imari N, Iwata S, Takeda M, Suehiro F : Evaluation of trabecular bone formation in a canine model surrounding a dental implant fixture immobilized with an antimicrobial peptide derived from histatin. *J Mater Sci Mater Med*, 22(12), 2765-2772, 2011.
13. Shigeishi H, Takechi M, **Nishimura M**, Takamoto M, Minami M, Ohta K, Kamata N:

- Clinical evaluation of novel interconnected porous hydroxyapatite ceramics (IP-CHA) in a maxillary sinus floor augmentation procedure. *Dent Mater J*, 31 (1), 54-60, 2012.
14. Honda, KK, Kawamoto T, Ueda HR, Nakashima A, Ueshima T, Yamada RG, **Nishimura M**, Oda R, Nakamura S, Kojima T, Noshiro M, Fujimoto K, Hashimoto S, Kato Y: Different Circadian Expression of Major Matrix-Related Genes in Various Types of Cartilage: Modulation by Light-Dark Conditions, *J Biochem*, 154(4), 373-381, 2013.
 15. Mikami, S, Nakashima A, Nakagawa K, Maruhashi T, Iwamoto Y, Kajikawa M, Matsumoto T, Kihara Y, Chayama K, Noma K, Ochi M, **Nishimura M**, Tsuji K, Kato Y, Goto C, Higashi Y: Autologous Bone-Marrow Mesenchymal Stem Cell Implantation and Endothelial Function in a Rabbit Ischemic Limb Model, *PLOSone*, 8(7), e67739, 2013.
 16. **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. *日本口腔インプラント学会雑誌*, 26(4), 668-675, 2013.
 17. Ishii M, Shibata R, Kondo K, Kambara T, Shimizu Y, Tanigawa T, Bando-Kureishi, Y, **Nishimura M**, Ouchi N, Murohara T, Vildagliptin stimulates endothelial cell network formation and ischemia-induced revascularization via an endothelial nitric oxide synthase-dependent mechanism, *J Biol Chem* 289 (39): 27235-27245, 2014.
 18. Ishii M, Nakahara T, Ikeuchi S, **Nishimura M**. β -Amyrin induces angiogenesis in vascular endothelial cells through the Akt/endothelial nitric oxide synthase signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun*. 467: 676-682, 2015.
 19. Morishita K, Tatsukawa E, Shibata Y, Suehiro F, Kamitakahara M, Yokoi T, Ioku K, Ueda M, **Nishimura M**, Ikeda T. Diversity of multinucleated giant cells by microstructures of hydroxyapatite and plasma components in extraskelatal implantation model. *Acta Biomaterialia* 39: 180-191, 2016.
 20. Ahmed GJ, Tatsukawa E, Morishita K, Shibata Y, Suehiro F, Kamitakahara M, Yokoi T, Koji T, Umeda M, **Nishimura M**, Ikeda T. Regulation and Biological Significance of Formation of Osteoclasts and Foreign Body Giant Cells in an Extraskelatal Implantation Model. *Acta Histochemica et Cytochemica* 49(3): 97-107, 2016.
 21. Murakami J, Ishii M, Suehiro F, Ishihata k, Nakamura N, **Nishimura M**. Vascular Endothelial Growth Factor-C Induces Osteogenic Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells through the ERK and RUNX2 Pathway. *Biochemical and Biophysical Research Communications (BBRC)* 484: 710-718, 2017.
 22. Suehiro F, Ishii M, Asahina I, Murata H, **Nishimura M**. Low-serum culture with novel medium promotes maxillary/mandibular bone marrow stromal cell proliferation and osteogenic differentiation ability. *Clinical Oral Investigations* , in press
 23. Ishii M, Nakahara T, Araho D, Murakami J, **Nishimura M**. Glycolipids from spinach suppress LPS-induced vascular inflammation through eNOS and NK- κ B signaling. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, in press

5. 本研究に関するその他の成果

(1) 著書

西村正宏. 歯科臨床のための顎骨の再生・増生の科学
—インプラント治療成功のベーシック—. 医学情報社 H27.12.1 発刊, 全 87 ページ.

(2) 特許

①特許第 4388483 号 登録日 2009 年 10 月 9 日
間葉系幹細胞の骨化及び/又は軟骨化促進剤と骨化及び/又は軟骨化促進方法

②米国特許 : US8, 119, 397 B2 登録日 2012. 2. 21
特許 第 5048323 号 登録日平成 24 年 7 月 27 日
Australia 特許 2005228778 2010. 10. 7
損傷組織の治療剤と治療方法

③特許第 4703943 号 登録日 2011 年 3 月 18 日
米国特許 : US 6, 992, 178 B2 取得日 : 2006. 1. 31
発明名称 : 外部刺激に対する抵抗性付与剤

④特許第 5140804 号 登録日 2012 年 11 月 30 日
生体再生カプセル

⑤特願 2015-099488 「血管新生促進剤」 出願日 : 平成 27 年 5 月 14 日

⑥特願 2016-245727 「細胞接着因子発現抑制剤」 出願日 : 平成 28 年 12 月 19 日