

最近のトピックス

ヒト培養歯肉上皮シートの臨床応用 Clinical application of human cultured gingival epithelial sheets

新潟大学大学院医歯学総合研究科 摂食環境制御学講座
歯周診断・再建学分野

百瀬 学, 奥田 一博, 吉江 弘正

Division of Periodontology, Department of Oral
Biological Science, Niigata University Graduate School of
Medical and Dental Sciences
Manabu Momose, Kazuhiro Okuda,
Hiromasa Yoshie

1975年アメリカのGreenらは特殊な細胞株(3T3-J2)を用いることにより、それまでは不可能とされたヒト表皮角化細胞の培養にはじめて成功した¹⁾。通常、表皮角化細胞は培養中に容易に最終分化をきたし、十分な増殖を得ることは難しい。しかし、ヒト表皮角化細胞と放射線により不活化された3T3を共培養することで、表皮角化細胞の十分な増殖を得たのである。このGreenらの培養方法の特徴は、表皮角化細胞が培養中にコンフルエントに至った後さらに増殖を続け、最終的には約5~8層に重層化することで薄いシート状の構造を持ち、シャーレ上から剥離できる機械的強度を有することである。そして、この培養表皮シートは、1981年にO'Connerらのグループがはじめて体表の皮膚欠損症例の移植に用い成功した²⁾。

現在、移植治療の先進国であるアメリカでは、人体の細胞を利用して皮膚、血管などが作られすに商品化されている。日本においても培養皮膚の臨床応用は研究段階から臨床試験段階にはいりつつあり³⁾、特に口腔外科領域においては少量の自己表皮や自己粘膜組織を採取後、このGreenらの培養方法を用いて作成された培養シートを腫瘍摘出後の軟組織再建術などを必要としている患者に移植する治療は広く行われており良好な成果を上げている^{4) 5) 6)}。そして、これらの培養シートが良好な成果を上げている背景のひとつに、そのシート自身の細胞から放出されている増殖因子が重要な役割を果たしていることが推察される。培養シート移植後の創傷治癒過程が良好であるためには、そのシート自身の細胞が十分な活性を有していることはもちろん、早期の血管形成による栄養供給、細胞外基質産生促進、上皮細胞増殖促進作用があることが必須である。血管形成促進はvascular endothelial growth factor (VEGF)、細胞外基質産生促

進はtransforming growth factor-beta-1 (TGF- β 1)、上皮細胞増殖促進はtransforming growth factor-alpha (TGF- α)、epidermal growth factor (EGF)がそれぞれ深く関与しているといわれている。そこでわれわれは、まず、ヒト歯肉組織由来の歯肉上皮培養シートを作成し(図1)、その形成過程(T0:形成前, T1:コンフルエント時, T2:重層化時)における培養上清中のVEGF, TGF- β 1, EGF量を測定することにより、これらの細胞増殖因子が創傷治癒過程に及ぼす影響を検討した。その結果、培養シート形成過程でVEGF, TGF- β 1, EGFが培養上清中に放出されていることが確認された(図2)。従って、これらの増殖因子が培養シート移植後の創傷治癒過程に効果的に作用する可能性が示唆された⁷⁾。またシートの組織切片の免疫組織学的に検討を加えたところ、増殖細胞核抗原陽性細胞が基底細胞層で多数局在することおよびサイトケラチン19陽性細胞が多数認められたことから、細胞増殖活性および角化能を有する生物学的活性を有していることも明らかとなった。

歯周領域において、歯肉退縮や付着歯肉の減少は審美的な問題や患者自身による口腔衛生管理を困難とし、また、補綴処置後の予後にも悪影響を及ぼすとの報告がある。これまで根面被覆術や付着歯肉増大術など、歯肉結合組織の再生を期待した歯周形成外科手術時において、主に口蓋から採取した組織を移植部位に用いることが多かった。しかし、この方法は手技的に熟練を要することや術野が複数ヶ所に及ぶことなど、術者・患者双方にとっての負担は大きい。従って、将来この組織工学的技術を応用して作成された培養シートがこれらの手術時に移植部位に適用することが可能になれば、術者・患者双方にとっての負担を大幅に減少させるとともに、良好な創傷治癒を期待できるため、両者にとってその恩恵は大変

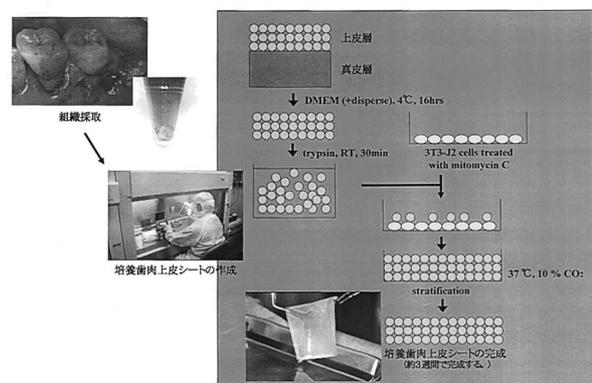


図 1

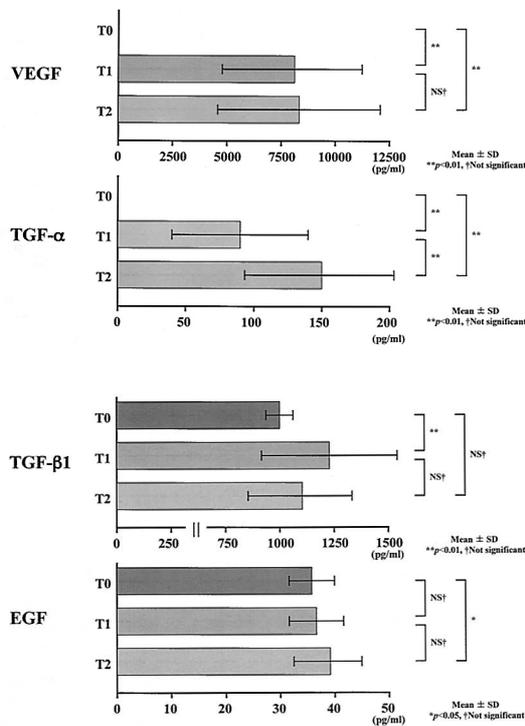


図 2

大きいものになると考えられる。そこで、次にわれわれは、これらの基礎研究をふまえて、ヒト培養歯肉上皮シートを歯周外科治療の際の供給床として用いる臨床応用を行った。術後の治癒過程も良好で、3か月目において角化度は低いものの付着歯肉は増大し角化歯肉が下方へ増殖していく傾向が認められた。1年予後では、約2mmの付着歯肉幅が獲得できた。これらの結果より、この培養歯肉上皮シートは臨床応用が可能であり、さらに、従来の手術方法と比較しても有益な点が多いことが示唆された。

歯周領域でこの培養歯肉上皮シートの臨床応用はまだ始まったばかりであるが、今後は真皮組織の培養研究、さらには培養皮膚の研究を進めていきたいと考えている。

参考文献

- 1) Rheinwald JG, Green H. Serial cultivation of strains of human epidermal keratinocytes : The formation of keratinizing colonies from single cells. *Cell*, 6 : 331-344,1975.
- 2) O'Conner, N. E. et al. : Grafting of burn with cultured epithelium prepared from autologous epidermal cells. *Lancet*, 1 : 75-78, 331-344,1981.
- 3) 吉江弘正, 奥田一博 : ティッシュ・エンジニアリングと再生医学の時代. *歯界展望* 96(1) : 140-141,2000.
- 4) Hata K, Kagami H, Ueda M, Torii S, Matsuyama M. The characteristics of cultured mucosal cell sheet as a material for grafting; comparison with cultured epidermal cell sheet. *Ann Plast Surg.*, 34 : 530-538, 1995.
- 5) Ueda M, Hata K, Horie K, Torii S. The potential of oral mucosal cells for cultured epithelium : A preliminary report. *Ann Plast Surg.*, 35 : 498-504, 1995.
- 6) Ueda M, Sumi Y, Mizuno H, Hata K. Clinical results of cultured epithelial grafting delived by bio-skin bank system - the Nagoya experiences. *Materials Science and Engineering*, C6 : 211-219, 1998.
- 7) Momose M, Murata M, Kato Y, Okuda K, Yamazaki K, Shinohara C, Yoshie H. Vascular Endothelial Growth Factor and Transforming Growth Factor- β and- γ 1 Are Released from Human Cultured Gingival Epithelial Sheet. *J. Periodontol* 73 : 748-753, 2002.