

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 再生医療実用化研究事業
(英語) Research Project for Practical Application of Regenerative Medicine

研究開発課題名： (日本語) 歯科再生医療拠点を活用した歯周組織再生療法の確立
(英語) Development of a novel periodontal regeneration therapy at the hub dental institution of regenerative medicine

研究開発担当者 (日本語) 大阪大学 大学院歯学研究科 教授 村上伸也
所属 役職 氏名： (英語) Osaka University Graduate School of Dentistry, Professor, Shinya Murakami

実施期間： 平成 28年 4月 1日 ～ 平成 29年 3月 31日

分担研究 (日本語) ADSC 移植による歯周組織再生療法の評価と実用化に向けた取り組み
開発課題名： (英語) Evaluation of periodontal tissue regeneration by ADSC transplantation and development as practical use

研究開発分担者 (日本語) 大阪大学 大学院医学系研究科 教授 澤芳樹
所属 役職 氏名： (英語) Osaka University Graduate School of Medicine, Professor, Yoshiki Sawa

分担研究 (日本語) ADSC 移植による歯周組織再生療法開発のための臨床研究
開発課題名： (英語) Development of periodontal tissue regeneration by ADSC transplantation in a Clinical study

研究開発分担者 (日本語) 大阪大学 医学部附属病院 特任准教授 李千萬
所属 役職 氏名： (英語) Osaka University Medical Hospital, Research Associate Professor, Chun Man Lee

分担研究 (日本語) ADSC 移植による歯周組織再生療法開発のための臨床研究
開発課題名: (英語) Development of periodontal tissue regeneration by ADSC transplantation in a Clinical study

研究開発分担者 (日本語) 大阪大学 大学院歯学研究科 准教授 北村正博
所属 役職 氏名: (英語) Osaka University Graduate School of Dentistry, Associate Professor, Masahiro Kitamura

分担研究 (日本語) ADSC 移植による歯周組織再生療法開発のための臨床研究と試験物改良への取り組み
開発課題名: (英語) Development of periodontal tissue regeneration by ADSC transplantation in a Clinical study and approaches to improve the ADSC-scaffold complex

研究開発分担者 (日本語) 大阪大学 歯学部附属病院 講師 山田聡
所属 役職 氏名: (英語) Osaka University Dental Hospital, Lecturer, Satoru Yamada

分担研究 (日本語) ADSC 移植による歯周組織再生療法開発のための臨床研究
開発課題名: (英語) Development of periodontal tissue regeneration by ADSC transplantation in a Clinical study

研究開発分担者 (日本語) 大阪大学 大学院歯学研究科 助教 野崎剛徳
所属 役職 氏名: (英語) Osaka University Graduate School of Dentistry, Assistant Professor, Takenori Nozaki

分担研究 (日本語) ADSC 移植による歯周組織再生療法開発のための臨床研究と試験物改良への取り組み
開発課題名: (英語) Development of periodontal tissue regeneration by ADSC transplantation in a Clinical study and approaches to improve the ADSC-scaffold complex

研究開発分担者 (日本語) 大阪大学 歯学部附属病院 助教 北垣次郎太
所属 役職 氏名: (英語) Osaka University Dental Hospital, Assistant Professor, Jirouta Kitagaki

分担研究 (日本語) ADSC 移植による歯周組織再生療法開発のための臨床研究と試験物改良への取り組み、東北大学病院への技術移転
開発課題名: (英語) Development of periodontal tissue regeneration by ADSC transplantation in a Clinical study, approaches to improve the ADSC-scaffold complex and technical transfer to Tohoku University

研究開発分担者 (日本語) 大阪大学 大学院歯学研究科 助教 竹立匡秀
所属 役職 氏名: (英語) Osaka University Graduate School of Dentistry, Assistant Professor,

分担研究 (日本語) ADSC 移植による歯周組織再生療法の評価と先進医療開発および治験への準備・支援

開発課題名: (英語) Evaluation of periodontal tissue regeneration by ADSC transplantation and an arrange for the development and strategical support for an advanced medical therapy as well as clinical trials

研究開発分担者 (日本語) 近畿大学 薬学総合研究所 特任教授 早川堯夫

所属 役職 氏名: (英語) Kinki University Pharmaceutical Research and Technology Institute, Adviser/Visiting professor, Takao Hayakawa

分担研究 (日本語) ADSC 移植による歯周組織再生療法の評価

開発課題名: (英語) Evaluation of periodontal tissue regeneration by ADSC transplantation

研究開発分担者 (日本語) 大阪大学 医学部附属病院 准教授 山本紘司

所属 役職 氏名: (英語) Osaka University Medical Hospital Associate professor, Kouji Yamamoto

分担研究 (日本語) ADSC 移植による歯周組織再生療法の評価と先進医療開発および治験への準備・支援

開発課題名: (英語) Evaluation of periodontal tissue regeneration by ADSC transplantation and an arrange for the development and strategical support for an advanced medical therapy as well as clinical trials

研究開発分担者 (日本語) 国立成育医療研究センター センター長 梅澤明弘

所属 役職 氏名: (英語) National Center for Child Health and Development, director of the center, Akihiro Umezawa

分担研究 (日本語) 先進医療開発および治験への準備と技術移転のための準備

開発課題名: (英語) Preparation for advanced medical care or clinical trial and technical transfer to Tohoku University

研究開発分担者 (日本語) 東北大学 大学院歯学研究科 教授 齋藤正寛

所属 役職 氏名: (英語) Tohoku University Graduate School of Dentistry, Professor, Masahiro Saito

分担研究 (日本語) 臨床研究における安全性の評価と先進医療開発および治験への準備・支援、試験物改良への取り組み

開発課題名: (英語) Evaluation of safety in the clinical study and preparation for advanced medical care or clinical trial

研究開発分担者 (日本語) 医薬基盤・健康・栄養研究所 研究調整専門員 大倉華雪
所属 役職 氏名: (英語) National Institutes of Biomedical Innovation, Health and Nutrition,
Deputy Director, Hanayuki Okura

II. 成果の概要 (総括研究報告)

本研究開発では、臨床研究「自己脂肪組織由来幹細胞を用いた新しい歯周組織再生療法」を適切に実施し、同療法の安全性と有効性(適応症例の判断を含む)を慎重に評価し、先進医療開発につなげることを目的とした。

同臨床研究では、大阪大学歯学部附属病院口腔治療・歯周科にて歯周基本治療を受け、歯周組織再生療法の適応と判断された患者様を対象とし、研究への参加同意を取得した後、歯学部附属病院近未来歯科医療センターにて腹部皮下脂肪組織を採取した。同センター内に設置された閉鎖系細胞調整培養装置(セルプロセッシングアイソレーター:CPI)内にて、採取された腹部皮下脂肪組織から脂肪組織由来幹細胞(Adipose tissue-derived stem cell: ADSC)をGMPに準拠した工程管理に則り単離し、培養した。一定数まで細胞を増殖させた後、フィブリンゲルを足場材として歯周組織欠損部へ自家移植を行った。プライマリーエンドポイントは当該治療の安全性とし、セカンダリーエンドポイントは有効性とし、評価した。なお、培養期間中の感染症検査(無菌試験、マイコプラズマ否定試験、エンドトキシン試験)、研究コーディネート、モニタリングは大阪大学医学部附属病院未来医療開発部の協力のもと、連携を取りながら実施した。

平成26年度には、ADSCの培養方法の確立後、『ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針』を遵守し、一例目の被験者に対してADSCの自己移植を行った。平成27年度には、引き続き、上記指針のもと二例目の被験者に対してADSC移植を行った。そして、『再生医療等の安全性の確保等に関する法律』のもと臨床研究を継続するために、平成27年11月には大阪大学特定認定再生医療等委員会の審査を経て、近畿厚生局へ再生医療提供計画を届け出た。その後、同法律に則り平成28年3月末日までに五例の被験者に対してADSC移植を行った。

移植を行ったすべての症例に対し、臨床研究実施計画を遵守し、全身所見、口腔内所見に加え、血液検査、尿検査などの臨床検査や歯周組織検査並びにデンタルレントゲン検査を実施した。その結果、これまでに移植に関連したと考えられる有害事象は認められなかった。

また、一例目から三例目までの症例では、ADSC移植36週間までの観察を完遂し、当該治療の有効性について評価した。いずれの症例においても歯周ポケット深さは減少し、臨床的アタッチメントレベルの獲得を認めた。これらの所見は、軟組織における臨床的改善を意味する。さらに、規格デンタルレントゲン検査により、移植前の被験部位に認められた骨欠損は縮小あるいは消失しており、歯槽骨の再生が認められた。

本治療技術を大阪大学のみならず、他の大学病院にて実施すべく、東北大学への技術移転を開始した。これまでに、動物モデルを用いたベリフィケーションを完了し、手技・手法に関する大阪大学—東北大学間での技術移転および情報共有が完了した。

一方で、本治療法の実用化に向けた取り組みを行った。これまでに臨床研究にて得られた結果をもとに、厚生労働省医政局研究開発振興課にて先進医療開発のための事前相談を実施するとともに、

将来的な治験実施に向け、企業との共同研究契約を締結した。

一方で、ADSCの移植による歯周組織再生メカニズムに関して、ADSC由来液性因子に着目し解析を行い、その成果を学術論文として公表した (Sawada K et al. *Biochem Biophys Res Commun.* 464:299-305. 2015)。

(英文)

The objectives of this project were to carry out a clinical study on “a novel periodontal tissue regenerative therapy using autologous adipose tissue-derived stem cells,” carefully examine the safety and effectiveness of the therapy (including assessments of cases it is applied to), and help develop advanced medical care.

The subjects for the clinical study were patients who received initial periodontal therapy at the Department of Periodontics at Osaka University Dental Hospital, were deemed suitable for periodontal tissue regenerative therapy, and agreed to participate in the study. After gaining consent, abdominal subcutaneous adipose tissue was collected at the Center for Translational Dental Research in the hospital. Then, adipose tissue-derived stem cells (ADSC) were isolated and cultured in a Cell Processing Isolator: CPI at the center. After the cells reached a certain number, autografting was performed on areas of periodontium defect using fibrin gel as a scaffold. The primary endpoint was the therapy’s safety and the secondary endpoint was its effectiveness. During the culture period, tests for infectious diseases (sterility test, mycoplasma negative test, endotoxin test) were conducted, and the trial was coordinated and monitored in conjunction with the Medical Center for Translational Research at Osaka University Hospital.

In the 2014 fiscal year, after a method for culturing ADSC was established, the first ADSC autograft was performed on a participant by following the “Guidelines on clinical stem cell research.” In fiscal 2015, ADSC autografting was performed on the second participant according to these guidelines. To continue the clinical trial under the “Act on the safety of regenerative medicine,” a regenerative medicine proposal was submitted to the Kinki Regional Bureau of Health and Welfare in November 2015 after approval by a special certification committee on regenerative medicine at Osaka University. ADSC autografts were then performed on 5 participants according to this law up to the end of March 2016.

Laboratory examinations including blood and urine tests were performed, along with periodontium exams and dental radiographies. These did not indicate any adverse events thought to be associated with the grafts.

The first to third cases were followed for 36 weeks after ADSC grafting to assess the effectiveness of the therapy. In all cases, periodontal pocket depth decreased and clinical attachment level was gained. These findings indicate clinical improvements in soft tissue. Standard dental radiography showed that the osseous defects observed in the affected areas before grafting had either shrunk or disappeared, and regeneration of alveolar bone was observed.

Since this therapeutic technology should not be limited to Osaka University, but be used at other university hospitals, a technology transfer to Tohoku University was initiated. A verification using an animal model has been completed, and Osaka University and Tohoku University have finished technology transfers and information sharing regarding techniques and methods.

Efforts have also been made bring this therapy into practical use. Prior consultations on developing advanced medical care were held with a department for promoting research and development that is part of the Ministry of Health, Labor, and Welfare’s Health Policy Bureau. A joint research contract with a corporation has also been

signed for a future clinical trial.

We also analyzed ADSC-derived humoral factors to study the mechanism of periodontium regeneration in ADSC grafts, and published the results (Sawada K et al. Biochem Biophys Res Commun. 464:299-305. 2015).

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 0 件、国際誌 1 件)

1. Murakami S. Emerging regenerative approaches for periodontal regeneration: The future perspective of cytokine therapy and stem cell therapy. Interface Oral Health Science 2016 (Keiichi Sasaki et al. Eds), Springer

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Periodontal regeneration by ADMPC transplantation in man, ポスター, Takedachi M, Sawada K, Iwayama T, Yamamoto S, Morimoto C, Hirai A, Sano Y, Kitamura M, Murakami S, Moscone West Convention Center, San Francisco CA USA, 2017/3/23, 国外.
2. 歯科医療における再生医療等の臨床応用化の現状と課題 脂肪組織由来多系統前駆細胞を用いた歯周組織再生療法の開発, 口頭 (シンポジウム), 村上伸也, 仙台国際センター, 2017/3/7, 国内.
3. Periodontal tissue regeneration by transplantation of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. Basic research toward the clinical application, ポスター, Lee CM, Takedachi M, Sawada K, Ohkawara H, Matsuyama A, Kitamura M, Murakami S, Westin Gaslamp Quarter, San Diego USA, 2016/11/19, 国外.
4. Periodontal tissue regeneration by adipose tissue-derived multi-lineage progenitor cell transplantation, ポスター, Takedachi M, Sawada K, Iwayama T, Yamamoto S, Morimoto C, Hirai A, Sano Y, Kitamura M, Murakami S, San Diego Convention Center, San Diego USA, 2016/9/10-13, 国外.
5. 再生医療・解剖学の理解と歯周臨床 歯周組織再生の今と未来・可能性, 口頭 (シンポジウム), 村上伸也, 東京国際フォーラム, 2016/11/13, 国内.
6. ここまで進んだ再生歯科医療の現在, 口頭 (シンポジウム), 村上伸也, 福岡国際会議場, 2016/10/22, 国内.
7. 歯周組織再生療法の現状と将来展望 —サイトカイン療法と細胞移植療法の未来を俯瞰する—, 村上伸也, 口頭 (特別講演), 大阪大学歯学部同窓会記念会館, 2016/10/2, 国内.
8. Periodontal tissue regeneration by adipose tissue-derived multi-lineage progenitor cell transplantation, ポスター, Takedachi M, Sawada K, Iwayama T, Yamamoto S, Morimoto C, Hirai A, Lee CM, Okura H, Matsuyama A, Sano Y, Kitamura M, Murakami S, San Diego Convention Center, San Diego CA USA, 2016/9/11, 国外.
9. Periodontal regeneration by cytokine therapy and stem cell therapy, 口頭 (招待講演), Murakami S, Hanoi International Center for Exhibition, Hanoi, Vietnam, 2016/8/27, 国外.

10. 自己脂肪組織由来多系統前駆細胞移植による歯周組織再生療法の開発, 口頭 (シンポジウム), 竹立匡秀, 沢田啓吾, 李千萬, 岩山智明, 山本智美, 森本千晶, 平井麻絵, 佐野夕子, 松山晃文, 大倉華雪, 北村正博, 村上伸也, 札幌コンベンションセンター, 2016/8/24, 国内.
11. The mechanism of periodontal tissue regeneration by transplantation of adipose tissue-derived multi-lineage progenitor cells, ポスター, Sawada K, Takedachi M, Iwayama T, Yamamoto S, Morimoto C, Hirai A, Lee CM, Okura H, Matsuyama A, Sano Y, Kitamura M, Murakami S, Moscone West Convention Center, San Francisco CA USA, 2016/6/22-25, 国外.
12. Periodontal regeneration: Present status and future outlook, 口頭 (招待講演), Murakami S, Suntec Singapore Convention & Exhibition Center, 2016/4/10, 国外.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

該当なし

(4) 特許出願

該当なし