

骨再生医療のための骨膜培養

田中 孝明

骨膜 periosteum は骨の表面の骨皮質 cortex を覆う組織である。生体内では骨膜は骨の保護や栄養分供給に関与しているが、培養した骨膜シートの骨再生医療への応用が期待されている。

骨組織の再生医療に関するもっとも進んでいると思われる原因是、歯周病によって失われた歯槽骨の再生である。歯周病は細菌 *Porphyromonas gingivalis* によって引き起こされる疾患であり、重度に進行すると歯根を保持している歯槽骨が失われる。歯周病によって冒された部位は病巣を除去しても、その空間に増殖の速い上皮組織が侵入してくるため、歯槽骨が再生できない。この問題点を克服するために自家骨膜を培養して得られた骨膜シートを用いる再生医療の臨床試験が進められている。

再生医療における三大要素は「細胞・シグナル分子・足場材料」と言われる。新潟大学医歯学総合病院では患者本人の顎骨から採取した骨膜を培養した骨膜シートを「細胞」として用いた再生医療の臨床試験を行っている¹⁾。手術に先立ち、患者の顎骨より 5×5 mm の骨膜小片を採取し、病院附属の生命科学医療センター内の細胞プロセッシング室にてシャーレ上で 6 週間培養すると、直径 30 mm、厚さ 50 μm 程度の骨膜シートが形成される。この培養骨膜シートは骨膜細胞が多層に増殖しており、コラーゲンなどの細胞外マトリックスとともにゲル状のシートとなっている。

「シグナル分子」の供給源には、多血小板血漿 (PRP) が用いられている。患者自身の血液 8.5 ml を 2 回遠心分離して、赤血球、白血球、および大部分の血漿を除去し、血小板が少量の血漿に懸濁された液体 0.6 ml を PRP として用いる。PRP は骨の再吸収や骨芽細胞の増殖を刺激する血小板由来増殖因子の供給源となる。再生手術の直前に PRP をアルギン酸ナトリウム溶液と混合し、ゲル状になりかけたら 0.25–1.0 mm の大きさのヒドロキシアパタイト (HA) 粒子と混合する。HA は骨の無機成分に近い材料であり、「(移植時の) 足場材料」として用いられている。手術時には PRP-HA- ゲルを、病巣を除去した部分に埋め込み、培養骨膜シートで覆った後、歯肉の部分を縫合し、2 週間後に抜糸を行う。

新潟大学医歯学総合病院では、これまでに 30 症例以上の臨床試験が実施されている。術後のケアも行い、1 年後には歯槽骨の再生が確認されている。培養骨膜シートが骨芽細胞の供給源となるとともに、上皮組織の侵入を防ぐ「遮断膜」としても機能したためと考えられる。また、再生部位のがん化や骨膜シートによる感染症など

は見られず、安全性も確認されている。

前述のように骨膜シートは病院附属の細胞プロセッシング室で培養されている²⁾。ドアに暗証キーの付いたバイオクリーンルーム内で、安全キャビネットと CO₂ インキュベーターを用い、専属の培養士 2 名が患者由來の組織の培養を担当している。なお、同施設では閉塞性動脈硬化症の治療のための骨髄細胞の培養や口腔癌術後再建のための口腔粘膜の培養も行っている。

培養骨膜シートを用いた再生医療の問題点の一つとして骨膜シートが粘着性を有するゲル状の柔らかいシートであり、手術時の取り扱いが困難な点が挙げられる。現在は熟練した医師が手術を行っているが、同手術を実施できる医師は限られており、再生医療の普及を妨げている。そこで、骨膜の培養時に支持体となる「足場材料」を用いる方法が検討されている。移植後の細胞への栄養分の供給や老廃物の除去を行うためには高分子多孔質膜が適している。多孔質膜表面の凹凸構造は採取した組織と足場材料の初期接着にも有効である（アンカー効果）。

ポリ乳酸製多孔質膜も骨膜シートの「(培養時の) 足場材料」候補の一つである。ポリ乳酸は生体吸収性高分子であるため、培養骨膜シートを移植し、骨組織が再生後に多孔質膜が分解・吸収されることが期待される。熱誘起相分離法で作製したポリ乳酸製多孔質膜上でヒト骨膜を培養するとシート状に骨膜組織が増殖した。シャーレ上の培養と比較して増殖速度は遅かったが、DNA マイクロアレイで分析すると、コラーゲンや細胞接着分子カドヘリンなどの発現レベルが上昇していた³⁾。30 日間培養した骨膜シートをヌードマウス（異種組織に対して免疫拒絶反応を示さないマウス）の体内に移植すると、ポリ乳酸製多孔質膜に毛細血管などが侵入し、分解・吸収が進むことも確認された⁴⁾。

顎骨の骨膜は口腔から比較的容易に採取できる組織である。自家組織であるため、移植時に免疫拒絶反応が生じない。口腔粘膜上皮細胞シートを用いた角膜再生医療が行われているように、顎骨由来骨膜シートの幅広い骨再生医療への応用も期待される。

- 1) Yamamiya, K. et al.: *J. Periodontol.*, **79**, 811 (2008).
- 2) <http://www.bmrctr.jp/saisei/index.html>
- 3) Kawase, T. et al.: *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, **98A**, 100 (2011).
- 4) Kawase, T. et al.: *J. Bioact. Compat. Polym.*, **27**, 107 (2012).