

研究課題別評価書

1. 研究課題名: 骨リモデリングシミュレーションで挑むテラーメイド再生医療

2. 氏名: 手塚 建一

3. 研究のねらい

骨は、造血、免疫、血中カルシウム濃度を維持しながら、力学的負荷に耐えるという重要な機能を持つ支持器官である。本研究は、骨の疾患によって変形した骨内部の力学状態と、それに適応しようとする細胞の働きをコンピュータで再現し、患部を適切に治療する戦略を計算によって求める方法を探る。さらに、次世代の医療として注目されている幹細胞治療についても、細胞生物学的手法を用いて研究し、シミュレーションと細胞工学を融合させた新たな治療戦略の構築を目標とする。

4. 研究成果

【研究の概要】

近年、体内撮影技術の進歩によって、骨の形態を3次元的に正確に取り出す事ができるようになった。医師は、その情報をもとに診断・治療をおこなうのが普通である。たとえば、下顎骨の矯正治療を外科的におこなう場合、下顎骨の形状が変化し、それによっても力学環境も大きく変わる。骨は、力学環境に適応する性質を持っている(Wolffの法則)ために、その変化した力学環境が、骨のリモデリングを誘発し、骨は新しい力学環境に適応した形状へと移行する。その過程予測は、現在では医師の経験にたよるところがほとんどであるが、ときには医師の予想をはずれ、もとの形状に戻る後戻り現象が起こる。そこで、われわれはまず、治療前の下顎骨形態をもとに、骨が適応していると思われる力学環境を、シミュレーションによってもとめ、成長や手術によって引き起こされる力学環境の変化に対して、骨がどのような適応変化を起こすかを予測する事を目標に研究をおこなった。また、ヒト親知らず歯胚から得られる医療廃棄物である歯髄組織から、幹細胞を単離し、その性状解析もおこなった。

【研究方法と結果】

(1) PC クラスタシステムを用いた下顎骨のシミュレーション解析

計算には HPC システムズ社製 PC クラスタシステム (Box Type PentiumD 8node 16core) を使用した。デンタル CT から作製した70万要素程度のモデルならば、1週間に30通りの力学条件で解

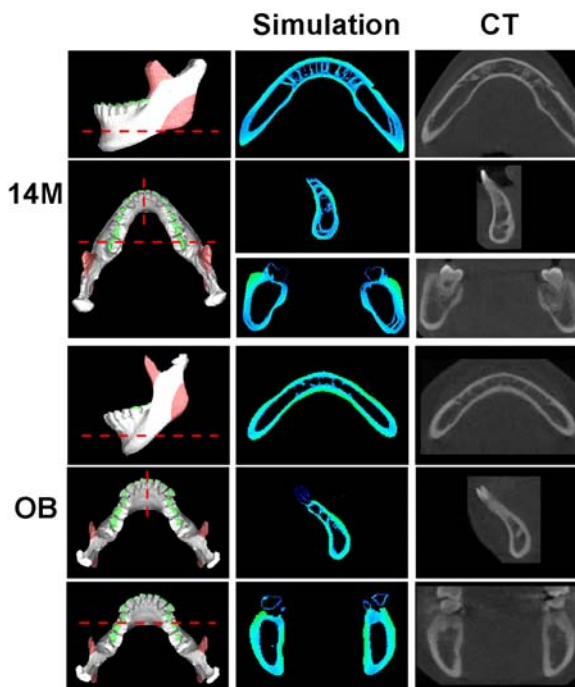


図1 正常例(14M)と咬合異常例(OB)の下顎骨にさまざまな力学条件を与え、その中で最も CT データに近い形状を与えるものを抽出した。赤点線で示した断面形状と応力分布を示す。正常例、異常例どちらにおいても、正確に皮質骨の形状が再現できている。

析が行えるため、病院でのデスクサイドシミュレーションに充分に対応できる。

正常例1例(14M)と矯正患者(開咬)1例(OB)の下顎骨 CT 画像データをもとに、シミュレーション解析をおこなった。両者とも、3次元形状再現性に優れたデンタル CT を用いて得られたデータを、ラトックシステムエンジニアリング社の TRI3D ソフトウェアで読み込み、3次元モデルを構築した。われわれが開発した反応拡散系骨リモデリングシミュレータ「iBone」(文献 3、5)を用いて、それぞれのモデルについて、約100通りの力学条件で解析をおこない、オリジナルモデルと最も近い形状を与える力学条件を探索した。その結果、図1に示す様に下顎骨のほぼ全体に渡って、力学的強度に重要な影響を与える皮質骨構造をほぼ完全に再現する条件を見つける事ができた。その過程で、正常例、患者例ともに、臼歯咬合の重要性が示唆されるとともに、歯の咬頭同士が噛み合う事によって、歯に「前後斜め方向のすべり」が生じる力学条件への適応が示された。興味深い事に、咬合異常患者では、咬頭が摩耗する事によって、平坦化しているが、それによる適応構造への影響も示す事ができた。また、ラトックシステムエンジニアリング社との共同研究により、解析結果のうち、力学的ストレス分布と、オリジナル形状との一致度を、商用ソフトウェアである、TRI を用いて3次元的に表示することが可能になった。3次元の外形状やオリジナル形状との一致度、ストレス分布などを直感的に捉え、しかも任意の断面を観察する事ができるようになった。

(2) マウス脛骨成長モデル(発展研究)

矯正歯科の専門家とのディスカッションの中で、新たに浮かび上がったのが、骨の外形状を変化させられないかという問題である。当初、骨の外形状変化については、取扱いが非常に困難であろうと予測していた。しかし、骨は成長にともなって外形状が変化する上、矯正治療の際の外科的手術による変形も考慮し、より実用的なシミュレーションを作製するためには、骨の外形状の変化を許す必要がある。そこで、取扱いが簡単で、詳細な解析が可能なマウスのモデルを使って、成長にともなう外形状変化をシミュレーションするための実験系を構築した。野生型および大理石病マウスの腹腔に、骨に取り込まれて蛍光を発する性質のあるテトラサイクリンを、1週間おきに2回投与し、その後脛骨を取り出して、非脱灰切片を作製した。切片をそのまま蛍光観察する事によって骨の形成部を蛍光標識する事に成功した(図2)。大理石病マウスの骨は、破骨細胞によってテトラサイクリン標識が除かれる事がないため、骨の成長過程が鮮明に記録される。そこで、この大理石病マウス頸骨をもとに、成長シミュレーションモデルを構築中である。

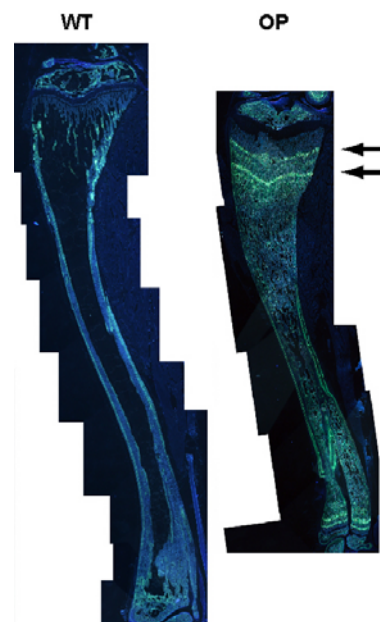


図2 野生型(WT)と大理石病(OP)マウスに、テトラサイクリンを投与後、脛骨の非脱灰切片を作製した。蛍光観察する事により、OP で骨の成長部が特異的に標識されている事がわかる(矢印)。

(3) ヒト親知らず細胞バンクの構築と細胞性状の解析

顎変形症治療にともない廃棄される親知らず歯胚からの歯髓細胞採取を進め、約100例の患者から細胞を生きたまま取り出し、保存する事に成功した。これらの細胞は、リン酸カルシウムの足場とともに、マウス皮下に移植すると象牙質によく似た組織を形成するが、その性質は10回継代すると失われてしまう。そこで、4継代後と10継代後の細胞で、発現している遺伝子を比較したところ、*Wnt16*という遺伝子が継代にともなって発現してくることがわかった(文献1)。骨などの大きな組織の再生医療には、大量かつ高品質な細胞を得る事が重要であ

り、いかにして細胞の性質を変えずに継代をおこない、細胞数を増やすかという問題に、今後取り組んでいきたいと考えている。

5. 自己評価

当初、過去の文献などを調査しても、生体骨に与える力学条件を定める事ができず、実用的なシミュレーション構築の大きな障害となっていた。そのため、問題を生理的力学条件の探索に絞り、網羅的な条件解析によって、本物の骨の形状に最も近いシミュレーション結果を与える条件の探索をおこない、下顎骨は臼歯咬合の、しかも複数の咬み合わせ条件に適応した構造である事を示す事ができた(論文準備中)。そして、外科的手術の予後予測シミュレーションを目標にさらに研究を進め、これまでほとんど前例のない術後予想という大きなハードルを超えようとしている。本成果は、岐阜大学マッチングファンドプロジェクトにも採用され、ラトックシステムエンジニアリング社との共同研究という形で、社会に還元されつつある。今後、より多くの臨床例を解析することによって、実用性を高めて行く事ができると考えている。また、iBoneの生体シミュレーションとしての側面からは、成長とリモデリングという2つのシステムの融合を目指した研究をスタートした。骨を含め、生体組織は成長(モデリング)と適応(リモデリング)の2つの働きが相互作用して形作られるが、その部分に挑戦可能なレベルまでシミュレーションの基礎技術を発展させる事ができた。

幹細胞については、骨髓から採取される細胞の活性が低く再生医療への応用を困難にしている点に注目した。歯(親知らず)から、再生医療に利用可能な細胞が大量に得られる事が分かり、まずその性状解析を細かにおこなった。その結果、この細胞は非常に増殖能が高いが、組織再生の能力が早期に失われる事を発見した。遺伝子解析によって、その原因を究明中であり、成果を歯科関連のトップジャーナルである、Journal of Dental Researchに投稿しアクセプトされた(文献1)。医療廃棄物であり、多くの人がその存在に悩まされている親知らずから簡単に組織幹細胞を得られる事は、朝日新聞にも写真入りで取り上げられ、大きな反響を呼び、日本人由来幹細胞バンクとして他に例を見ないものへと発展している。

6. 研究総括の見解

手塚研究者は、骨構造再現と臨床応用を目的としたヒト変形性骨疾患治療シミュレータを構築した。その結果、健常者と矯正患者のヒト下顎骨の内部構造の再現に成功し、骨の形態情報から力学条件の導出が可能となり、仮想手術シミュレーションが行えるようになった。今後は成長や手術後の骨の外形変形に対する検討を行うことにより、さらに実用性の高い治療シミュレータへと発展させてほしい。

また、幹細胞による硬組織再生研究ではヒトの歯から再生医療に利用可能な細胞の取り出し、保存を可能とした。実際の再生医療には大量かつ安定的に細胞を得ることが重要であり、今後の研究の進展に期待したい。

7. 主な論文等

A さきがけの個人研究者が主導で得られた成果

(1) 論文(原著論文)発表

1. Tomoko Takeda, Yoko Tezuka, Machiko Horiuchi, Kazuhiro Hosono, Kazuki Iida, Daijiro Hayakeyama, Shigeru Miyaki, Takahiro Kunisada, Toshiyuki Shibata, and Ken-ichi Tezuka: Characterization of dental pulp stem cells of human tooth germs. J. Dent. Res., in press.
2. Ken-ichi Tezuka, Tomoko Takeda, Yoshitaka Wada, Akiyuki Takahashi, and Masanori Kikuchi: Computer simulation of human mandible bone structure by iBone, a novel reaction-diffusion bone remodeling model. Key Engineering Materials, vols. 306-308, pp. 1277-1282, 2006.
3. Ryoji Fujimaki, Yoshiaki Toyama, Nobumichi Hozumi, Ken-ichi Tezuka: Involvement of

Notch signaling in initiation of prechondrogenic condensation and formation of nodules in limb bud micromass cultures. J. Bone Miner. Metabol. 24, 191–198, 2006.

4. Ken-ichi Tezuka, Yoshitaka Wada, Akiyuki Takahashi, and Masanori Kikuchi: Computer-simulated bone architecture in a simple bone-remodeling model based on a reaction-diffusion system. J. Bone Miner. Metabol. 23, 1–7, 2005.

(2)特許出願

なし。

(3)著書

1. ティッシュエンジニアリング 2006 (日本医学館)日本組織工学会監修、田畑泰彦、岡野光夫 編:手塚建一, 開祐司:骨・軟骨形成で働く誘導因子, p.18–23, 2006

(4)雑誌解説

1. 手塚建一, 上岡寛:メカニカルストレスと骨へ骨細胞の生物学から骨リモデリングシミュレーションへー医学のあゆみ(医歯薬出版)Vol. 221, p76–80, 2007 (A, B)

(5)新聞、雑誌記事、マスコミ発表

1. 「骨の形探求、医療応用目指す」(2008/1/15)岐阜新聞朝刊
2. 「多田しげおの気分爽快！情報サプリメント」歯髄細胞に関するインタビュー(2005/11/9) CBCラジオ
3. 「親知らずから間葉系幹細胞」(2005/10/25) 朝日新聞夕刊
4. 「骨折治療、きめ細かく」(2005/7/8) 朝日新聞夕刊
5. Bionics(オーム社) 2005年2月号 p62–63

(6)招待講演

1. 第 111 回日本解剖学会(2006/3/31, 北里大学)手塚建一: 骨リモデリングシミュレーション「iBone」へ細胞による最適構造設計へ(シンポジウム招待)
2. 「研究会:生きている現象はみえるか？」(2005/11/28, 京大会館)手塚建一: 骨リモデリングシミュレーションで挑むテーラーメイド再生医療
3. 骨強度に関する国際シンポジウム(第25回日本骨形態計測学会)(2005/6/17–19, 東京砂防会館) K. Tezuka: Computer simulation of bone structure by iBone, a novel reaction-diffusion bone remodeling model. (招待講演)
4. 東京骨軟骨フォーラム (2005/4/16, 東京コンファレンスセンター)手塚建一: iBoneで挑むシミュレーション骨再生医療(招待講演)

(7)学会発表

1. 第7回日本再生医療学会総会(3/14, 名古屋国際会議場)武田知子、手塚洋子、飯田一規、國貞隆弘、柴田敏之、手塚建一: ヒト歯髄幹細胞の長期培養における分化能低下と遺伝子発現の変化
2. 第25回日本骨代謝学会学術集会(7/19–21, 大阪国際会議場)手塚建一、山口徹太郎:コンピュータシミュレーションによるヒト下顎骨内部構造の再現
3. 日本分子生物学会2006フォーラム(12/6–8, 名古屋国際会議場)手塚建一、川口敦司、武田知子、高橋昭如、和田義孝、菊池正紀: 骨リモデリングシミュレーション「iBone」によるヒト下顎骨構造評価
4. 28th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research (9/15–19, フィラデルフィア) K. Tezuka, T. Takeda, K. Hosono, D. Hatakeyama, Y. Tezuka, T. Kunisada and T. Shibata: Isolation and characterization of human dental pulp stem cells from tooth germs of young adults.

5. 27th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research (9/23-27, ナッシュビル) K. Tezuka, A. Kawaguchi, A. Takahashi, T. Takeda, Y. Wada, and M. Kikuchi: Mechanical significance of human mandibular bone structure assessed by a remodeling simulation.

B その他の主な成果

- (1) 論文(原著論文)発表 1件
- (2) 新聞、雑誌記事、マスコミ発表 1件
- (3) 招待講演 4件
- (4) 学会発表 16件