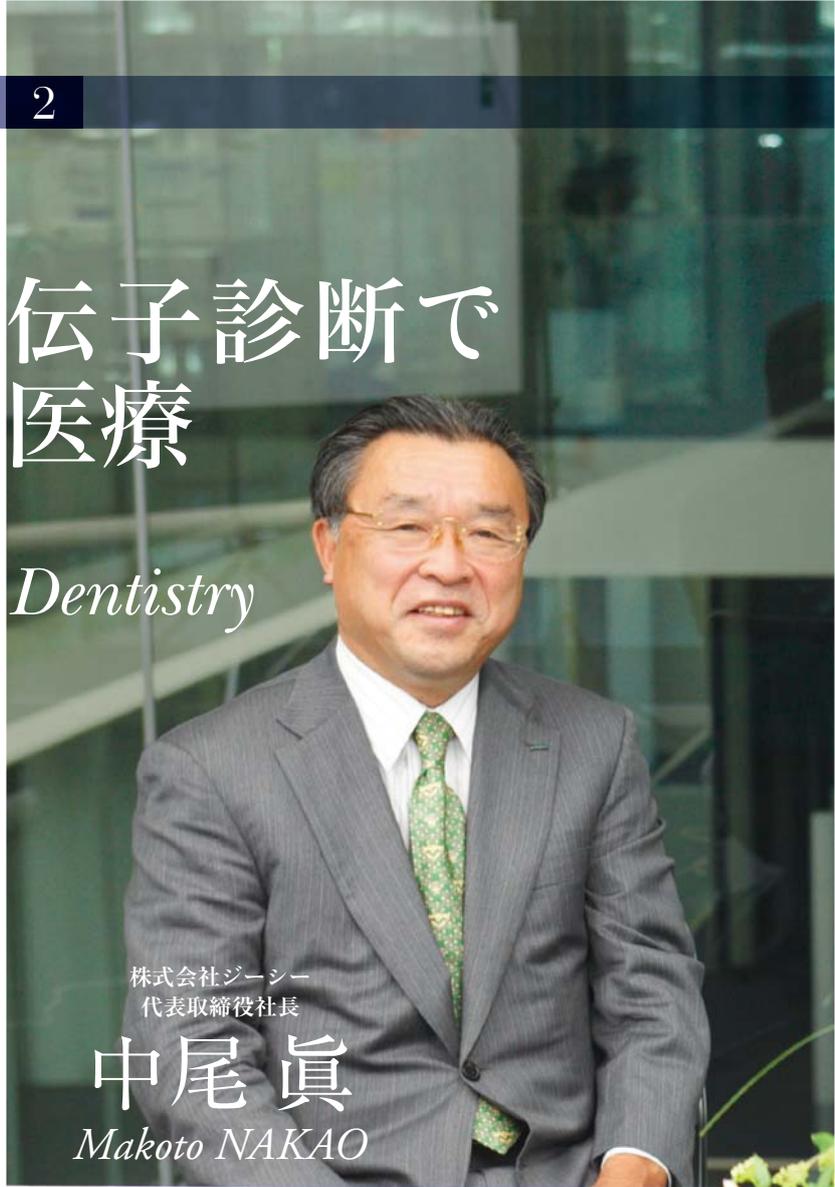


iPS細胞と遺伝子診断で 進化する再生医療

最先端の*Personalized Dentistry*

近年ではインプラント治療、GTR、GBR、骨補填材、GEM21などの普及が進んでいます。そして今、最先端技術としてiPS細胞と遺伝子診断を活用した再生医療の研究が進められています。これらが実現する再生医療とはどのようなものか。普及のカギは何か。再生医療の第一人者であるUCLAの西村一郎先生と大阪大学の江草 宏先生にお話を伺いました。



株式会社ジージー
代表取締役社長

中尾 眞
Makoto NAKAO

1. 再生医療について

再生医療とiPS細胞

中尾 人体の組織が欠損した場合に、その機能を回復させる方法として再生医療が注目されています。なかでも、日本発の革新的な技術であるiPS細胞は、より進んだ再生医療を実現するものとして期待が高まっています。歯科においては、再生医療がさらなる*Personalized Dentistry*を推進する技術になると、私どもでも高い関心を寄せています。そこで今日は、*Personalized Dentistry*の研究で知

られるUCLA歯学部教授でワイントロープ研究所 所長の西村一郎先生と、歯科でのiPS細胞の研究における第一人者でいらっしゃる大阪大学 大学院歯学研究科 顎口腔機能再建学講座 歯科補綴学第一教室の江草 宏先生に、進化する再生医療についてお話を伺ってまいります。それでは、本日のテーマのベースとなる再生医療について、まず江草先生がなされている研究をご説明いただけますでしょうか。

江草 私は補綴の教室で、患者様の治療に携わりながら再生医療の研究に取り組んでいます。補綴治療は主に歯を

失った患者様が対象ですが、歯を失った後の顎の骨は、生体反応の結果必ず吸収されてしまいます。この吸収が重度の症例では、工夫を凝らした義歯を作製したり、インプラント治療の際に骨移植や骨補填材を用いたりすることで対処することになります。しかしながら、治療結果が充分とは言えない場合も多く、あらたな治療技術の必要性を感じて再生医療の研究に着手しました。

将来的には急速に進歩する再生医学の研究を、*Personalized Dentistry*に応用できればと考えています。

再生医療には、生体材料や薬剤のみ



UCLA 歯学部 教授
ワイトロープ研究所 所長

西村一郎 先生
Ichiro NISHIMURA

大阪大学 大学院歯学研究科
顎口腔機能再建学講座
歯科補綴学第一教室 助教

江草宏 先生
Hiroshi EGUSA

で再生を促すアプローチもありますが、欠損の範囲が大きい場合には、体の中から取ってきた幹細胞を試験管内で増やして、組織の再生を促す状態にして欠損部位に移植するというアプローチが必要となってきます。

私の研究の説明に入る前に、基礎知識として幹細胞について説明します。われわれの生体組織の中にも幹細胞は眠っています。これを使えば、ある程度いろんな組織を再生することができます。しかし、採取できる数が少ないうえに、これらの幹細胞では再生可能な組織が限られていることから、口腔内すべての

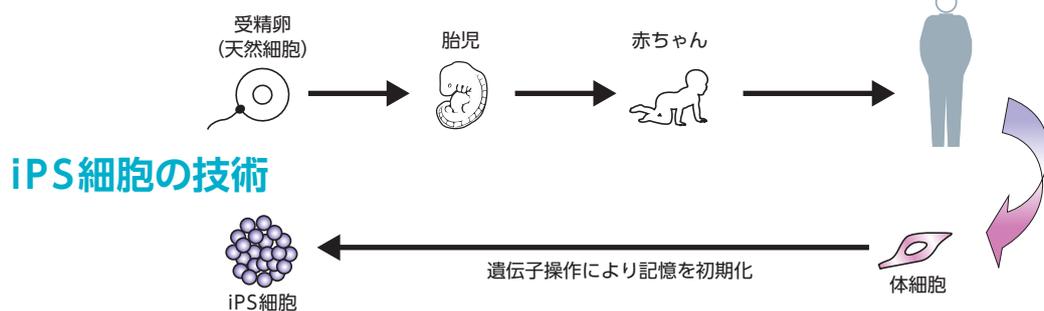
組織や器官を効率よく再生することは難しいわけです。これに対して、いくらでも増やせてどんな細胞にもなることのできる万能細胞に、ES細胞があります。しかし、ES細胞は「受精卵」を材料として作りだしますので、倫理的に大きな問題があります。

ES細胞は環境によってどんな細胞にも変化していきますので、人間で例えると、赤ちゃんから始まり、幼少年時代に過ごした環境から青年期に専門分野を選択し、社会人として決まった職業に就いていくという時間的な流れがあります。京都大学の山中伸弥教授が発見した

iPS細胞は、この時間的な流れを反対方向に変えた革新的な技術と言えます。iPS細胞は、山中因子と呼ばれる4つの遺伝子を患者様の皮膚などの細胞に入れることでその記憶が初期化され、万能細胞になったものです。つまり、大人から取ってきた細胞でも遺伝子操作によって受精卵の状態に引き戻して、そこから生体にあるどんな細胞にも導くことができるのです。それがiPS細胞の技術です(図1)。

iPS細胞は患者様自身の細胞を資源に作り出しますので、倫理的問題は少ないと考えられています。また、自分の

受精卵から胎児、成人にいたる過程



万能細胞による再生治療のながれ

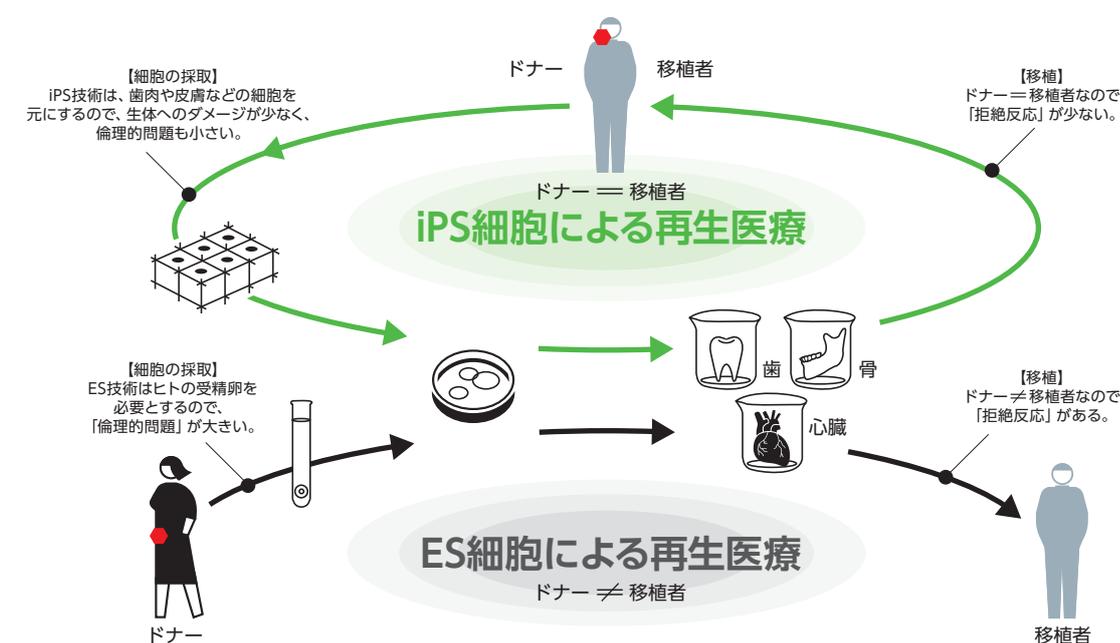


図1 iPS細胞技術の概念および再生医療への応用におけるES細胞との相違。

細胞から作製したiPS細胞を自分に移植するので、免疫拒絶が少なく済むのではないかと期待されています。

歯肉からiPS細胞を作る

中尾 江草先生は、世界に先駆けて歯肉から採取した細胞でiPS細胞を作ることになったそうですね。

江草 はい。歯科におけるiPS細胞の活用を考えたとき、私は歯肉からiPS細胞をつくる利点に注目していました。歯肉

は、歯科医にとってアクセスが容易なうえ、口腔内の傷は皮膚に比べて治りが早いので、採取した際のダメージを小さく抑えることができます。近年のインプラント治療の普及にともない、インプラント埋入時に歯肉を切り取る症例も増えてきました。切り取った歯肉は廃棄されていますが、この歯周病菌に侵されていない健全な歯肉組織を利用してiPS細胞を作ることができないかと考えたことが研究に取り掛かるきっかけでした。

実際には、マウスにしる、ヒトにしる、歯肉から得た細胞に山中因子を入れるとiPS細胞を作り出すことができました(図2)。

ここで、私たちはひとつ工夫をしました。山中因子の中のc-Mycという遺伝子が、ガンを引き起こす可能性があるため、これを使わずにiPS細胞を作れることを試みたのです。その結果、c-Mycを除く3つの遺伝子でiPS細胞を作り出すことができました。

作製したiPS細胞は、試験管内や生体内で神経、肝臓や骨などのいろいろな細胞や組織になることができるので、万能細胞であるということが示せたわけです。

少し入り組んだ実験になりますが、われわれはiPS細胞を黒いネズミの細胞

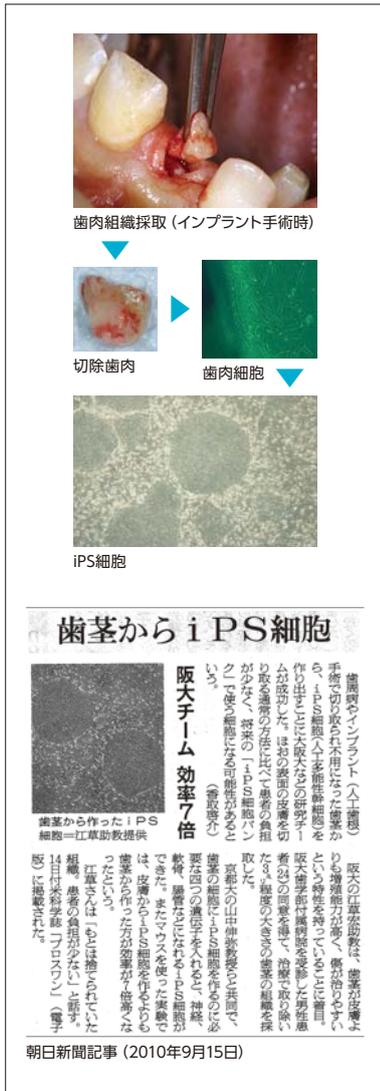


図2 患者の歯肉を用いたiPS細胞の作製 (Egusa H et al, PLoS One 2010;5(9):e12743より)。

から作っています。黒いネズミから作ったiPS細胞を、白いネズミの受精卵(胚盤胞)の中に移植して子宮に戻すと、iPS細胞が体中のいろいろな組織になり、白と黒の混ざったキメラマウスが生まれました。キメラマウスが生まれた時点で、作製したiPS細胞の質が良いことを示しています。さらに、このキメラマウスと白いマウスを交配させて生まれてきた子どもの中に、真っ黒なマウスが出てくる場合があります。これは、黒いマウス由来のiPS細胞が、雄のキメラマウスの中で精子にまで分化していて、それが交配させた白い雌ネズミの体内で受精し、黒い

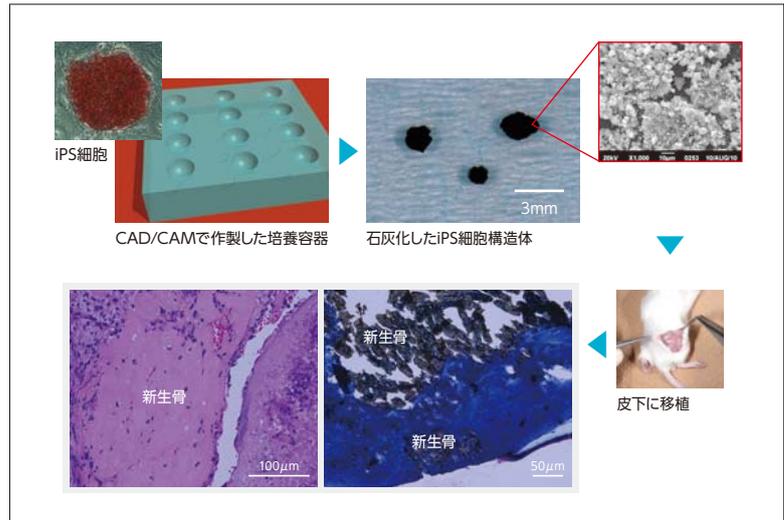


図3 iPS細胞の移植による骨形成。CAD/CAM技術により作製した培養容器を用いて必要なサイズの石灰化iPS細胞構造体を作製しマウスの背中に移植すると、成熟した骨が形成された(未発表データ)。

マウスが生まれたということを示しています。要するに、歯肉の細胞がiPS細胞を経由して精子の代わりをして受精に至ったことがポイントです。

中尾 歯肉のiPS細胞が生殖機能を担って、生体までもが生まれたということですね。

江草 そうです。そして、われわれは歯肉からc-Mycを使わずに質の高いiPS細胞が作れることも示したわけです。

西村 iPS細胞の生産率というのは、歯肉の細胞は皮膚に比べるとかなり高いと言われていますが、どのくらい高いのですか。

江草 7倍から10倍は効率的に作ることが可能です。

iPS細胞の歯科への応用

中尾 歯科におけるiPS細胞の活用としては、どのような展望で研究が進んでいるのでしょうか。

江草 ティッシュエンジニアリングという概念は、最近ではこれに工学や物理学、コンピューターサイエンスなどの技術を応用した、バイオエンジニアリングという概念に発展しつつあります。これによって生

体の環境を試験管内に模倣し、より生体に近い組織や器官を作ることができるようになって考えられています。このような技術が、iPS細胞を用いた再生技術の発展を強力に推進すると期待しています。

われわれはiPS細胞から骨を作る技術の開発を進めており、試験管の中で3次元的に石灰化したiPS細胞の構造体の作製に成功しています。不思議なことに、iPS細胞は立体的に増殖・分化していくという性質をもっているため、それを利用することでスキャフォールドフリーの骨移植材料が作れるのではないかと概念で研究を進めています。実際、マウスの背中のもとと骨がないところでもこのiPS細胞の構造体を移植することによって、成熟した骨の形成を誘導することが可能になっています(図3)。

歯科臨床への応用としては、CAD/CAM技術を使って患者様の骨欠損にあわせた形のモールドを作製し、これをもとに試験管の中で必要な形態のiPS細胞の凝集体を作り、それを石灰化させたものを骨移植材として欠損部に入れて再生を促すといった方法が考えられます。

歯の再生研究で世界の最先端を行く東京理科大学の辻孝先生は、マウスの歯胚の作製に成功し、これをマウスの顎

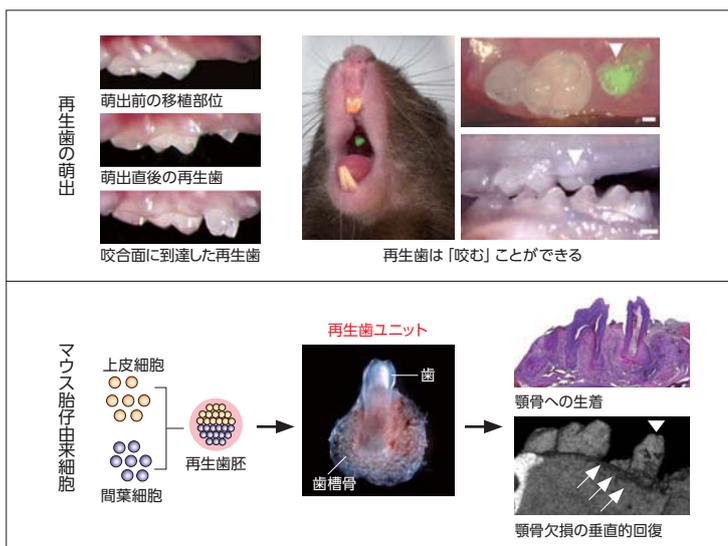


図4 東京理科大学・辻孝教授らによる歯の再生研究。マウスの胎児由来の細胞から作製した再生歯胚（緑色発光標識）は、萌出して機能することが可能である (Ikeda E et al. Proc Natl Acad Sci USA. 2009;106(32):13475-80.)。また歯の周囲に歯槽骨を含む構造体（再生歯ユニット）を作製することで、顎骨欠損部位に歯と同時に歯槽骨の再生を可能にしている (Oshima M et al. PLoS One, 2011;6(7): e21531)。

の骨の中に埋めると歯が生えてくることを証明しています (図4)。

われわれ歯科医師にとっては人工的に作製した歯が萌出するだけでもすごいことなのですが、それがただ生えてくるだけでなく噛める。つまり、歯として機能することも示されています。露髄をすれば痛いと思いが、矯正をすれば、しっかり動く。これは、非常に大きな技術の進歩だと思います。今、インプラントでは、経年により咬合が変わってきたと

きに動かせないことが問題になっています。しかし、再生した歯に歯根膜が付いていれば動かすことも可能になるため、理想的な欠損補綴治療の技術になるかもしれません。さらに最近、歯だけではなくその周りに歯槽骨を含む構造体（再生歯ユニット）を人為的に作ることも可能だということがわかってきました。歯の再生が必要になるのは高齢の方が多いと考えられますが、そういった方は顎の骨がないわけです。そこでこの再生

歯ユニットの技術を使えば、骨ごと歯を再生させることも可能になってくる。辻先生の研究は、そういった可能性を示唆してくれる内容だと思います。

現在の技術では、この再生歯はマウスの胎仔に由来する細胞から作製していますが、将来的にはこれを患者様の歯肉から作製したiPS細胞から作製できるのではないかと期待しています。

2. 遺伝子診断とiPS細胞が可能とする Personalized Dentistry

遺伝子診断で広がる 歯科医療の可能性

江草 「われわれはどこから来たのか。われわれは何者なのか。そしてわれわれはどこへ行くのか」というポール・ゴーギャンの言葉を、補綴家として私なりに考えてみると、再生医療というのはブローネマルク氏がオッセオインテグレーションを発見したところから始まっているのではないかと思います。そして今日に至っては、日本の一流の臨床家らによって、大きな

欠損でも細胞の移植を用いずに材料と軟組織の移植だけで審美的な再生治療を可能にした症例が報告されるようになりました。

米国では、ティッシュエンジニアリングや幹細胞を使った再生技術は、5~20年で完成するだろうと言われています。そうしたときに行き着くのはどこか。私はテラメード医療だと考えています。

患者様AとBに同一の術者が同様の骨増生術を施しても、Aには期待した通りに骨が残ったけれどBには予知したよりも骨吸収が起こってしまい、審美的な問

題が生じることがあります。そのとき、今のわれわれは、術前にインフォームドコンセントで骨吸収の可能性を説明しているのに、「仕方がなかった」で終わってしまっているわけです。そこを「仕方がなかった」で終わらせないために、患者様ごとの骨吸収の様子を検査・診断で予知できないかと考えているわけです。ここは西村先生のご研究ですね。

西村 無歯顎の場合、どんどん顎の骨がなくなっていくわけですが、急速に顎の骨が吸収してしまう患者様もいれば、そうでない患者様もいます。そこで、か

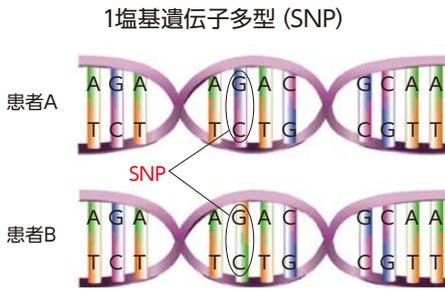


図5 ヒトゲノム(約30億の塩基対からなる)には、個人の間に約0.3%の割合で違いが認められる。各個人によって異なる遺伝子上の一つの塩基配列部位は、一塩基多型(Single Nucleotide Polymorphism : SNP)と呼ばれ、このSNPの存在が遺伝子発現に影響を及ぼし、さまざまな個人差として現れることが明らかとなっている。

ねてより顎堤吸収の原因を研究してきました。これは補綴科にとっては大きな問題で、1960年代からさまざまな研究がなされており、解剖学的な男女の違いではないかとか、入れ歯によって吸収するとか、いろいろなことが言われていました。まだヒトゲノムの配列がわかっていない時代でしたので、従来の研究では遺伝的な要因が欠けていました。

ヒトの遺伝子は約30億の塩基対が並んでおり、その並び方の違い(約0.3%)により個人の差が現れます(図5)。個人によって異なる遺伝子上の1つの塩基配列部位は一塩基多型(SNP)と呼ばれ、このSNPの存在が遺伝子発現に影響を及ぼし、さまざまな個人差として現れることが明らかになっています。このような遺伝的な違いが、患者様ごとの差に影響しているのではないかと考えて研究してきました。

この研究の中で、Wit3.0という遺伝子が関与していることを発見しました。これは口腔粘膜の創傷治癒過程で発現し、粘膜組織を収縮させる力を発揮します。ですから、その収縮力によって圧迫ストレスが掛かることで、その下にある骨の吸収が進むのではないかという仮説を立て、顎の骨がよく吸収されてしまう患者様と、そうでない患者様のグループに

分け、Wit3.0遺伝子のSNPパターンと顎堤吸収レベルを検証しました。すると、顎堤吸収が少ない人はSNPのSNP2、SNP3がきれいに並んでいるのに対して、SNPの並びにばらつきがある場合は顎堤が非常に吸収されてしまう。遺伝子型の違いが顎堤吸収のリスクと関係しているという可能性を見出しました(図6)。従って、遺伝子型を調べれば、患者様が歯を抜いた後の顎堤吸収の度合いを予知できるということです。

iPS細胞の活用で患者様ごとの特性を知る

江草 インプラントなどの術後の移植組織の吸収や再生量を、予知性をもってコントロールするためには、遺伝子型や炎症・免疫制御に関する個人差を追究していく必要があります。個人差を分子生物学的に理解することによって、臨床検査、Evidence Based Medicineに基づいた歯科医療を目指していかなければいけないでしょう。ところが、遺伝子型は頬粘膜を拭って採取した細胞から調べられますが、骨を作る細胞の機能の個人差を見ようとしたときに、患者様の歯や骨を採取することは非現実的です。

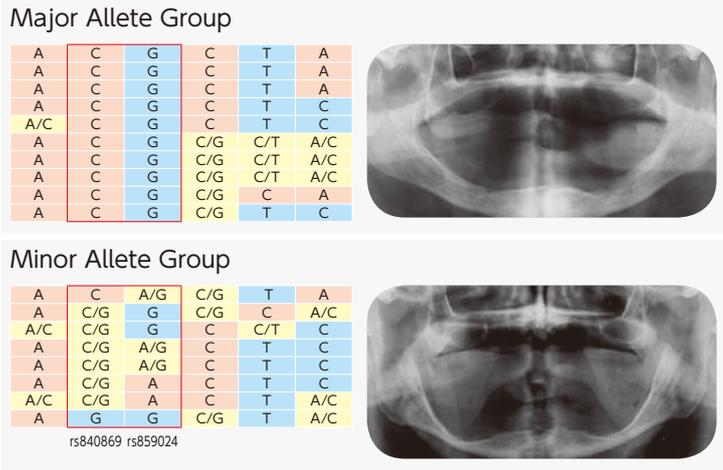


図6 Wit3.0のSNP分布と無歯顎堤吸収に関連があることがわかった。SNP2およびSNP3(赤枠内)が通常の遺伝子配列の場合、抜歯後、下顎骨が比較的良好に維持している(上)。しかし、この部分の遺伝子配列が異なると、下顎骨吸収が激しいことをつきとめた(下)。抜歯前に遺伝子診断を行うことで、無歯顎堤吸収の度合いを正確に予知できる可能性がでてきた。

そこで登場するのがiPS細胞です。患者様の歯肉から作ったiPS細胞は、その患者様の体質を反映している可能性があるわけです。将来的には、iPS細胞から歯、歯周組織、唾液腺が作れるようになることが予想されます。試験管内で作った組織は、その患者様の体質を反映した生体組織になるかもしれませんので、患者様個別のBMPやGEM21などの骨増生剤の効き具合を見ることができるとも考えられます。もっと言えば、試験管の中で歯周組織を作って歯槽骨吸収を再現できれば、術前に再生医療のリスクを見つけることができるかもしれません。

中尾 なるほど。治療結果を、再生した細胞であらかじめ試したうえで治療方針を決めていくわけですね。

江草 そうです。また、口唇裂、口蓋裂、シェーグレン症候群などの遺伝的因子が関与しているであろう病気の患者様からiPS細胞を作れば、その病気の特徴を持った万能細胞ができます。それを元に試験管の中に病態モデルを作れば、患者様ではなくその病態モデルを相手に研究を行うことができるため、研究室での探査が深まります。新たな治療法が開発できると考えています。

私は、考え方によっては再生医療自体

もPersonalized Dentistryだと思っ
たのです。個々の患者様から採取して、最も合
う状態のものを体内に入れようとしてい
るわけですから。したがって、iPS細胞は、
再生医療への活用を含めて、個人差を解
明し患者様の遺伝的体質に合った治療
法を探索するPersonalized Dentistry

のツールになると考えています。また、
iPS細胞を作るまでしなくても、患者様
から採取した歯肉細胞を使えば、西村
先生が示されたような遺伝子型の診断
もできます。トータルなパッケージで考
えれば、歯科だけではなく医科にも用い
ることができると思います。こういったと

ころが、私が考えているiPS細胞の活用
の方向性です。

西村 素晴らしいですね。若い先生た
ちの未来に向けた活動をサポートする
ために、検査という新しいカルチャーを
歯科医療に醸成させることが急務です。

3. 再生医療、遺伝子診断の将来

検査の文化を醸成するには

中尾 歯科医療に検査文化を醸成させ
るには、どのような取り組みが必要で
しょうか。

西村 まず、ジーシーのような社会にお



ゲスト・西村一郎先生

ける信義を貫く企業に、われわれと患者
様をつなぐパイプ役になってほしいです
ね。また、検査文化の醸成に何らかのエ
ビデンスが必要であれば大学研究機関
と共同研究をするなり、二人三脚で取り
組めるといいのではないのでしょうか。

江草 バイオエンジニアリングを用いた
再生医療技術は、希少疾患の患者様と
っては必要性が高いかもしれません

が、すべての患者様に必要とは限りませ
ん。幹細胞移植をとまなう大掛かりな再
生医療の必要性を検査によって診断す
ることが大切になってくると思います。

中尾 遺伝子診断によって歯周病やカリ
エスなどのリスクがわかると、予診治療
はどのような方向へ向かうとお考えです
か。

西村 これからは、どの遺伝子の亜型が
どの状態に最も関連しているかを発見す
ることが、遺伝子診断の研究の主題にな
ると思っています。遺伝病について調べ
るのはすでに方法論的には確立してい
て、患者様の家族の遺伝子を見ればい
いわけですが、顎骨吸収については患者
様本人の歯を抜かなければわかりませ
ん。抜歯せずに顎骨吸収の可能性を知
る方法がわかれば、遺伝子診断が予診
治療に活かされるようになると思いま
す。

中尾 そうした遺伝子診断の研究は進
展しているのでしょうか？

江草 論文があります。歯周病とカリ
エスに関しては、疫学研究で遺伝子型が違
えばおのおのリスクが違う可能性があ
ることがわかってきています。しかし、ま
だ数報なので、人種間での違いや、プロ
フェッショナルによる治療、開業医による
治療の下での違いまで検討されないと、
本当の意味でのサイエンスには到達しま
せん。研究を加速させるには、開業医の
先生方の参加が必要だと思っています。

中尾 ジーシーでは、2000年に診査・
診断、予防、コントロールの3本柱からな

るMIコンセプトを推奨しました。これは
まさに、今、先生方がお話しされたよう
なところを目指したものです。続いて
2006年には、ミュータンス菌を検査す
るシステムとして、歯周病原細菌検査「サ
リバチェック ラボPCR」をリリースしま
した。ところが日本の市場では保険制度
や患者様の費用負担などの問題から大



ゲスト・江草宏先生

学や研究機関での活用が主でした。し
かし、ここ数年インプラント治療にお
ける歯周関係の検査の重要性から、リア
ルタイムPCR法を用いた検査システムの
「サリバチェック ラボ歯周病原細菌」と
「サリバチェック ラボ歯肉関連細菌」を
新たに発売しました(図7)。

西村 それはいいですね。検査のエン
トランスになります。

江草 私は常々、検査の文化を浸透させる手段としては、歯科の中だけで浸透させるよりも、全身疾患に関連させながら浸透させるほうが効果的なのではないかと思っています。大阪大学では、ミュータンス菌の一部の菌はある変異を持っており、コラーゲン線維との結び付きが変わるので脳血管障害が起きやすいことを医学的に証明しています。このように、全身疾患と結び付けてその必要性を説明していくことが歯科における検査文化の醸成に役立つのではないのでしょうか。

新しい技術を研究する際、われわれ研究者は多くの場合、国から交付される科学研究費を使います。ですから、研究成果を日本発の技術につなげていくことはひとつのミッションだと思うのです。ところが、例えばインプラントを見ると、海外ブランドを用いる歯科医師が多い。それではインプラントが普及しても日本経済への貢献度が低いので、われわれがもっと真剣に日本発の技術を考えなければいけないと思っています。

中尾 インプラントに限らず、日本は要素技術をもっていました。それを発表できなかったことは、われわれメーカーの課題でもあると思います。

西村 私は、検査を日本発にできないかと思っています。アメリカにおいても検査市場を開拓できずにいるのが現状だと思います。残念なことです。ですからジーシーにはもう少し頑張っていただきたいですね。

中尾 はい。世界でリードできるように頑張ります。

再生医療の定着のカギは、成功率の向上と治療をサポートする検査の普及

中尾 将来的に再生医療を普及、定着させるには、どのようなことが必要だとお考えですか。

江草 先ほどもお話ししましたが、移植

を含めた再生医療がうまくいく患者様と、うまくいかない患者様がいます。この結果のバラツキを術前検査によって埋めるところから始めないと、定着はしないと思うのです。成功率が7割の治療方法に数百万円もつぎ込むのはリスクが高い。成功しなかった3割の患者様は悲惨ですよ。

中尾 今、インプラントの話ができましたが、抜歯の理由が深刻な歯周病だった場合、インプラント周囲炎の問題が多いそうですね。

西村 スウェーデンのデータでは、約30~40%の患者が経験しているようですが、理由がわかっていないのです。インプラント周囲炎は、細菌感染による炎症だけが原因ではなく患者様の体質に起因しているかもしれないから“オッセオセパレーション”と呼ぼうという提唱があります。



ジーシー・中尾 眞

江草 そもそも、細菌感染がなくても「骨免疫」という観点では骨と粘膜組織とのあいだには炎症反応が起こっているはずですよ。

西村 そういう意味で、オッセオインテグレーションの後にオッセオセパレーションという可能性があって、そのオッセオセパレーションをロングタームなfailure(不成功)の総称にしようという考え方

です。たとえ、インプラントの埋入が可能だったとしても、5年後にインプラントを失う可能性がある場合には毎年検査をして予防処置をするというように、インプラントをサポートする検査があっていいと思います。また、インプラントを入れる前の遺伝子検査で、5年後にインプラントを失う可能性があることがわかれば、その患者様にインプラント治療の有効性はないと判断できるかもしれません。

江草 そうなると、インプラントを失うリスクの低減を証明する技術や、リスクを見越した再生医療といった新しい技術が生まれるのではないのでしょうか。

西村 そうですね。インプラントを入れても、その患者様に最適なサポートの準備や態勢があれば、治療の有効性をコントロールできるのではないのでしょうか。

江草 原因を除去して、患者様個人に合った環境を整えるということですね。

西村 そのPersonalized Dentistryに欠かせないのが検査です。そういう意味では、ジーシーが担う社会的責任は大きいと思います。

中尾 再生医療がさらなるPersonalized Dentistryを推進する技術となるためにも、われわれジーシーが担う役割の大切さ、そして責任の重さをあらためて感じました。これからも精励恪勤の精神を忘れずに、先生方とともに歯科界のより一層の活性化に向けて取り組んでまいりたいと思います。本日は貴重なお話をお聞かせいただきありがとうございました。



図7 サリパチェック ラボ「歯周病原細菌」(上)とサリパチェック ラボ「歯肉連細菌」(下)。