

## 歯周病治療の最前線



技術解説

竹立 匡秀\*, 村上 伸也\*\*

Cutting edge of periodontal treatment

Key Words : periodontitis, periodontal regeneration, cell therapy

### はじめに

平成元年より厚生省(当時)と日本歯科医師会が「80歳になっても自分の歯を20本以上保とう」をスローガンとした8020運動を推進し、運動開始当初は10%以下であった達成率が、平成19年には25%、平成28年には50%を超えるに至った。時代は令和となり、今後も高齢者率が上昇すると予測されている我が国において、8020達成者をさらに増やし、歯と口の健康を維持することが健康長寿社会の実現にとって極めて重要との認識が高まっている。この8020運動の成功とさらなる発展には、歯を喪失する一番の原因である歯周病に対する治療の開発と普及が不可欠といえる。ここでは、歯周病治療、特に歯周病で失った歯を支える組織(歯周組織)を再生するための治療を中心に、その現状と最新の研究成果について概説する。

### 歯周病とは

歯は、2種類の硬組織(歯槽骨、セメント質)と2種類の軟組織(歯肉、歯根膜)から成る歯周組織によって顎骨に強固に支持されることにより、その機能を発揮している。しかしながら、歯と歯肉の境界面に形成された細菌バイオフィルム(デンタルプラーク)が原因となり歯周組織に炎症が惹起されると、その原因が除去されない限り、同組織の破壊が慢性的に進行する。これが、成人の約8割が罹患しているとされる歯周病である。歯周病の初期段階は、歯肉炎と呼ばれ、炎症が歯肉に限局した病態を示す。この炎症反応が年単位で持続することにより、歯周ポケット(歯と歯肉の間の溝)は徐々に深化し、歯槽骨の吸収やセメント質の壊死を伴う歯周炎と呼ばれる病態へと進行する。最終的には、歯はその支持組織を失い、動揺し、脱落することになる。近年、歯周病が糖尿病や心疾患など様々な全身疾患へも悪影響を及ぼす可能性が示されており、超高齢社会における歯周病治療の重要性が再認識されている。



\* Masahide TAKEDACHI

1975年7月生まれ  
大阪大学・大学院歯学研究科(2004年)  
現在、大阪大学 歯学部附属病院  
講師 博士(歯学) 歯周病学  
TEL: 06-6879-2931  
FAX: 06-6879-2934  
E-mail: takedati@dent.osaka-u.ac.jp



\*\* Shinya MURAKAMI

1959年7月生まれ  
大阪大学・大学院歯学研究科(1988年)  
現在、大阪大学 大学院歯学研究科  
教授 博士(歯学) 歯周病学  
TEL: 06-6879-2930  
FAX: 06-6879-2934  
E-mail: ipshinya@dent.osaka-u.ac.jp

### 歯周治療の原則

歯周病は必ずかかる病気ではない。日頃の適切な歯磨きや定期的な歯科検診により、原因となるデンタルプラークや歯石を除去することで予防が可能である。歯周病に罹患した場合にも、原因除去が初期対応の基本になることは変わらない。具体的には、患者自身が歯ブラシとともに歯間ブラシ、デンタルフロスなどの補助器具を用いたセルフケアを徹底することに加え、歯科医師あるいは歯科衛生士が、歯の表面に形成された歯石、歯根表面の壊死セメント質ならびに歯周ポケット(歯と歯肉の間の溝)に面した炎症肉芽組織を機械的に除去するプロフェッショナルケアを実施することにより歯周組織における炎症を軽減・消滅させ、病気の進行を止めることが

可能である。しかしながら、このような原因除去療法のみでは歯周病により破壊されてしまった歯周組織を再生させるには至らない。そのため、歯周病により失われた歯周組織の再生誘導を目的として、これまでにいくつかの歯周組織再生療法が開発され、日常臨床で一定の効果をあげている。

### 歯周組織再生療法とは

歯周組織再生療法とは、歯周病によって失われた歯槽骨・セメント質・歯根膜を再生することを目的として行われる外科的処置である。その歴史は古く、1980年代にはGTR (guided tissue regeneration) 法、1990年代に入りブタ歯胚由来エナメルマトリクスタンパク (エムドゲイン®) の局所投与法が開発され、両療法が長年にわたり歯周組織再生療法の主役を担ってきた。一方で、1990年代後半から研究開発が加速したのがサイトカインを用いた歯周組織再生療法である。我々の研究室では、塩基性線維芽細胞増殖因子 (FGF-2) の歯周組織再生誘導効果に着目し基礎から前臨床、臨床研究まで検討を重ね、2016年に世界初の歯周組織再生剤リグロス®の開発に成功した (図1)。



図1 日本発・世界初の歯周組織再生剤リグロス®

FGF-2は、強力な血管新生作用を有し、歯根膜細胞、骨芽細胞、軟骨細胞などの間葉系細胞の増殖や細胞外基質産生制御に関与することから、創傷治癒や組織再生の過程において重要な役割を果たすサイトカインであると考えられている。我々はこのFGF-2の作用を利用した新規の“歯周組織再生薬”の開発を目指し、1990年代初めから研究を行ってきた。

臨床試験に先立つ非臨床研究として、ビーグル犬とカニクイザルの実験的歯周病モデルを用いてFGF-2の歯周組織再生効果を明らかにするとともに、ビーグル犬に自然発症した歯周炎に対してもFGF-2の歯周組織再生効果を確認した。これらの成果を踏まえ、2001年より“医薬品”としての臨床応用を目指し、歯周炎患者を対象とした臨床試験 (治験) を開始した。健常ボランティアを対象にFGF-2を静脈内投与した第I相試験で安全性を確認した後、歯周炎患者の歯槽骨骨欠損を対象に、第II相臨床試験を行った。その結果、FGF-2の歯周組織再生効果が確認でき、その臨床推奨用量は0.3%であることが明らかとなった<sup>1</sup>。そこで、これら第II相試験の結果を受け、さらに多くの歯周炎患者を対象とし、実際の臨床使用を想定した0.3% FGF-2の歯周組織再生効果と安全性を検証するとともに、既に臨床で使用されている歯周組織再生用材料であるエムドゲイン®との比較試験を、第III相試験として実施した。その結果、0.3% FGF-2の歯周組織再生効果が示されるとともに、0.3% FGF-2がエムドゲイン®に対して歯周組織再生効果に関し非劣性を示した。なお、FGF-2群の増加量はエムドゲイン®に対して優越性を示す結果でもあった<sup>2</sup>。

また、上記の歯周炎患者を対象とした第II、III相臨床試験を通じて、FGF-2の臨床使用における安全性を検証したが、FGF-2に特異的で重篤な副作用は認められなかった。さらに、歯周組織欠損部へのFGF-2投与の長期的効果に関して、前期第II相臨床試験の被験部位を対象に追跡調査が行われた結果、FGF-2投与群では歯周病の悪化が原因で生じた事象 (イベント) の経時的な発生がFGF-2非投与群に比べ有意に少ないことが確認でき、FGF-2投与の長期的有効性が明らかとなった。

リグロス®は歯周組織再生を期待する歯槽骨欠損部局所への単回投与であることからGTR法で求められる高度な手術手技は必要ではなく、ヒトリコンビナント製剤として高い安全性に加え、血管新生作用と間葉系細胞の増殖誘導能など、その作用機序が分子生物学的に十分裏付けられているといえる。また、保険収載されたことから、今後は、リグロス®を用いた治療法が歯周組織再生治療における標準治療の一つとして定着していくものと期待されている。

## 歯周組織再生療法の限界

リグロス®を含め、既存の歯周組織再生療法はいずれも、歯周組織、なかでも歯根膜に内在することが知られている歯周組織幹細胞のもつ自己修復力を活性化することにより歯周組織の再生を誘導する治療法と捉えることができる。一方で、生体内の幹細胞数は加齢とともに減少し、歯周組織幹細胞の増殖能や分化能も同様に低下することが報告されている<sup>3</sup>。また、重度歯周病罹患歯においては、歯根膜の破壊に伴い同組織に内在する幹細胞の活用だけでは十分な再生効果が期待できないことから、上記の歯周組織再生療法はいずれも軽度から中程度の歯周組織欠損にその適応が限定される。そこで、重度の歯周組織欠損症例に適応することが可能で、かつ組織再生に高い予見性を有する新たな歯周組織再生療法の開発が、歯周病治療の分野において喫緊の課題となっている。

## 期待される再生医療

再生医療は「機能障害や機能不全に陥った生体組織・臓器に対して、細胞を積極的に利用して、その機能の再生を図るもの」と定義されている。「細胞を積極的に利用する」医療は、1970年代に白血病患者に対する造血幹細胞を含む骨髄移植治療として始まった。今では、間葉系幹細胞や、ES細胞、iPS細胞といった多能性幹細胞を用いた再生医療が、これまで治療が困難であった疾患を対象に研究開発されており、大きな期待が寄せられている。

歯周組織再生の分野においても、これまでに骨髄由来間葉系幹細胞、脂肪組織由来幹細胞、歯髓幹細胞、歯根膜幹細胞、さらにはiPS細胞を用いた移植治療の効果が非臨床研究にて報告されている<sup>4</sup>。また、Iwataらは、ヒト歯根膜細胞シートの自己移植による歯周組織再生療法の安全性と有効性を臨床研究にて評価し、報告している<sup>5</sup>。長期経過（平均55か月）症例においても良好な予後が観察されているものの、歯根膜細胞の供給源として抜歯可能かつ健全な第三大臼歯（親知らず）を有する歯周病患者の割合が低いことが、歯根膜細胞の自己移植療法の適応患者を制限する主原因となると述べられている。

我々の研究室では、採取に際して患者への負担が比較的少なく、多くの成人から採取可能であり、安全性も高いと考えられる脂肪組織中に存在する未分

化間葉系幹細胞に着目し、同幹細胞の自己移植による歯周組織再生誘導効果について検討を重ねてきた。

## 脂肪組織由来多系統前駆細胞

脂肪組織に存在する間葉系幹細胞は、他組織由来の間葉系幹細胞と比較して、低侵襲で比較的容易に採取可能であることに加え、自己複製能・増殖能が高いことや液性因子を多く産生することが報告されている<sup>6</sup>。一般に脂肪組織由来の間葉系幹細胞は、採取した脂肪組織を洗浄後、コラゲナーゼ処理したものを比重遠心し、得られた脂肪間質細胞を継代培養することで調整する。我々は、Okuraらの方法<sup>7</sup>に準じて脂肪間質細胞をEDTA処理することにより回収される細胞（脂肪組織由来多系統前駆細胞 ADMPC; Adipose tissue-Derived Multi-lineage Progenitor cells）を用いて、同細胞の自己移植による歯周組織再生効果を検討してきた。ADMPCは、従来の脂肪組織由来幹細胞に比べ、脂肪細胞、骨芽細胞等への分化能が高いことから純度の高い間葉系幹細胞と位置付けることができる。

## ADMPC 移植による歯周組織再生誘導に関する非臨床研究

我々はビーグル犬の実験的歯周病モデルを用いて、ADMPC自己移植による歯周組織再生効果を検証した。すなわち、ビーグル犬のADMPCを腹部大網より単離し、培養する一方で、ビーグル犬の下顎第三、第四前臼歯頰側分岐部に頬舌径3mm、高さ5mmの分岐部病変を人工的に作製、歯科用シリコン印象剤を填入し縫合することにより炎症反応を惹起した。4週後に、歯科用シリコン印象剤と周囲に形成された肉芽組織を搔把した後、試験側には自己由来ADMPCと足場材の複合体を、対照側には足場材のみを移植した。なお、移植に際しての足場材は、適度な賦形性とスペースメイキングに必要な強度を有する一方で、生体内の生理的環境下で吸収され、本来の組織に置換されることが望ましいと考えた。また近い将来における臨床応用を見据え、生体接着剤として既に臨床にて使用されているフィブリン製剤を用いた。移植後6週目にマイクロCTにて歯槽骨の再生を評価するとともに、組織切片を作製し、組織学的に歯周組織の再生を評価した。その結果、対照側と比較しADMPC移植側において有意

な歯槽骨再生が観察された。さらに、組織学的な解析にて ADMPC 移植による骨量の増加が確認される (図2) とともに、新生セメント質の有意な形成が確認された。また、骨性癒着や歯根吸収等の異常治癒所見は一切認められなかった<sup>8</sup>。

一方で、ADMPC 移植による歯周組織再生の Mode of Action を解明するために、ADMPC 由来の液性因子に焦点をあて、歯根膜細胞への trophic 効果に関して解析を行った。その結果、ADMPC 由来液性因子が歯根膜細胞の硬組織形成細胞への分化を促進し、同促進効果に ADMPC 由来 insulin-like growth factor binding protein 6 (IGFBP6) が関与していることが明らかとなった<sup>9</sup>。

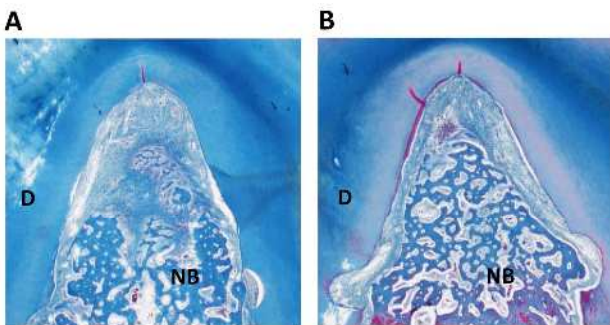


図2 ADMPCを移植したビーグル犬歯周病モデルに認められた歯周組織再生  
 フィブリンゲル (A) あるいは ADMPC-フィブリンゲル複合体 (B) の移植6週後のアザン染色像  
 D:象牙質 NB:新生歯槽骨 P:歯根膜

### ADMPC 自己移植による歯周組織再生療法の安全性と有効性に関する臨床評価

上記非臨床研究の結果を踏まえて、我々は ADMPC 自己移植療法の安全性と有効性を評価するための臨床研究を大阪大学歯学部附属病院近未来歯科医療センターにて実施した (図3)。同センターは歯周外科手術やインプラント治療などの歯科外来手術を安全に実施するための設備が完備された4つの手術室と、セルプロセッシングアイソレーターが設置された細胞培養加工施設から構成され、歯科における Translational research の遂行を目的に設立された。上記臨床研究の試験デザインは単施設実施単群非盲検試験とし、歯周病の原因除去療法を受けたのち、歯周外科処置の適応と判断された12名の重度歯周病患者を対象とした。研究参加の同意を取得した後、局所麻酔下にて腹部皮下脂肪組織を約10-30 mL採取し、上記センター内で GMP に準拠した細胞製剤調整システムを活用して ADMPC の単離、培養を行った。細胞数、生存率、純度ならびに感染症検査 (無菌試験、エンドトキシン試験、マイコプラズマ否定試験) 結果により試験物の規格が満たされていることを確認した後、移植当日にフィブリン製剤との複合体を作製した。ADMPC の移植手術は、通常の歯周外科手術と同様に、局所麻酔下にて当該

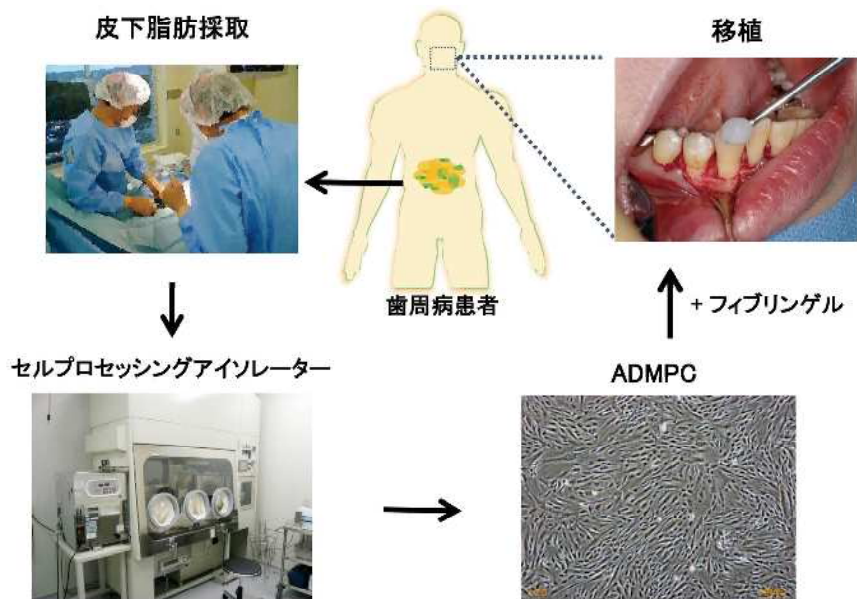


図3 ADMPC移植治療の流れ

部位の歯肉骨膜弁を形成後、肉芽組織を搔把し、歯槽骨欠損部に ADMPC・フィブリンゲル複合体を局所投与した後に歯肉骨膜弁を復位、縫合した。プライマリーエンドポイントは当該治療の安全性とし、移植1週後から36週後までの自覚所見や他覚所見に加え、血液、尿検査などの臨床検査を実施し、有害事象の有無、種類、重症度、発生頻度等を評価した。セカンダリーエンドポイントは当該治療の有効性とし、移植36週後における規格X線写真撮影により新生歯槽骨の増加率を解析するとともに、歯周組織検査にて歯周ポケット深さや軟組織の付着の獲得を評価した。2015年1月に First-in-man となる1例目の ADMPC 移植を実施した。同症例では、下顎左側犬歯の遠心に存在した垂直性骨欠損に対し ADMPC 移植を実施したが、移植36週後のX線写真では、移植前に認められた骨欠損はほぼ全て新生骨で満たされており(図4)、歯周ポケット深さは4mmの減少、軟組織の付着は2mmの獲得であった。移植から4年半が経過した現在においても、再生した歯槽骨のレベルは良好に維持されており、歯周ポケットの再発は認められていない。

2018年2月に予定症例数12例すべての被験者に対する ADMPC 移植を完遂し、同年10月には全ての症例における術後の経過観察を終了した。得られた臨床データから ADMPC 移植療法が既存の歯周組織再生療法の適応となる歯槽骨欠損においてのみならず、より重度な歯槽骨欠損に対しても組織再生効果を示すことが明らかとなった。実際、12例のなかには、抜歯適応と診断される症例が含まれていたものの、歯周組織の再生に伴い十分な機能回復

を果たしたのも少なくなかった。また、研究期間中に観察された有害事象はいずれも歯周外科処置に伴い生じるものであり、ADMPC 移植に関連すると思われる重篤な有害事象は認められなかった。

### 今後の課題

上記臨床研究にて得られた結果から、ADMPC の自己移植による歯周組織の再生医療は、安全かつ有効であると考えられる。一方で、同再生医療を実用化するために今後解決すべき課題は少なくない。上記臨床研究では、ほぼ全ての症例において歯周組織の回復が認められたものの、その効果には個人差が認められた。大変興味深いことに、移植した ADMPC の細胞特性の個体差が本治療法の有効性に関与する可能性が reverse translational research から見出されている。安定した治療効果を獲得するためには個体差を低減させ、高い歯周組織再生能をもった ADMPC を製造するための培養条件を明らかにすることが重要であると考えている。また、有効性を向上させる観点においては、ADMPC の至適足場材を選定することも急務である。近年、複数の歯科用骨補填材が上市されており、ADMPC の機能を維持あるいは向上させる骨補填剤の選定、混合比の検討に着手している。さらに、コスト面、人的資源の面から再生医療の実現には企業との連携が必須であり、同種移植製剤の開発を含め、産学連携なくして実用化はない。現在、共同研究を実施している企業と、歯科の実臨床への展開を見据え研究開発を継続している。

### おわりに

インプラント治療の普及により、歯を喪失した場合においても顎骨に支持された人工の歯を植立することで十分な機能回復を果たすことが可能な世の中となった。しかしながら、日常臨床では「歯を抜きたくない」「自分の歯を守りたい」という患者の強い希望を日々、目の当たりにする。次世代型歯周組織再生療法の開発はまだ始まったばかりであるが、その大きな可能性が明らかになりつつある。本治療法の研究開発を継続し、患者の期待に応え、歯の寿命を延伸させることで、歯と口が支える健康長寿社会の実現に寄与したい。

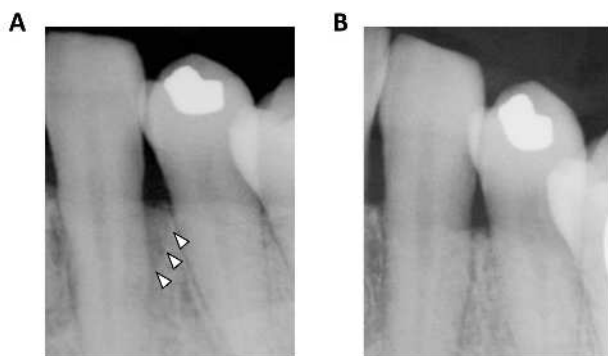


図4 ADMPC移植による歯槽骨再生  
移植前(A)と移植36週後(B)の規格X線写真  
矢頭は術前の歯槽骨欠損を示す。

## 参考文献

1. M. Kitamura, M. Akamatsu, M. Machigashira, Y. Hara, R. Sakagami, T. Hirofuji, T. Hamachi, K. Maeda, M. Yokota, J. Kido, T. Nagata, H. Kurihara, S. Takashiba, T. Shibutani, M. Fukuda, T. Noguchi, K. Yamazaki, H. Yoshie, K. Ioroi, T. Arai, T. Nakagawa, K. Ito, S. Oda, Y. Izumi, Y. Ogata, S. Yamada, H. Shimauchi, K. Kunimatsu, M. Kawanami, T. Fujii, Y. Furuichi, T. Furuuchi, T. Sasano, E. Imai, M. Omae, S. Yamada, M. Watanuki, and S. Murakami. FGF-2 stimulates periodontal regeneration: Results of a multi-center randomized clinical trial, *J Dent Res* 2011; 90(1):35-40.
2. M. Kitamura, M. Akamatsu, M. Kawanami, Y. Furuichi, T. Fujii, M. Mori, K. Kunimatsu, H. Shimauchi, Y. Ogata, M. Yamamoto, T. Nakagawa, S. Sato, K. Ito, T. Ogasawara, Y. Izumi, K. Gomi, K. Yamazaki, H. Yoshie, M. Fukuda, T. Noguchi, S. Takashiba, H. Kurihara, T. Nagata, T. Hamachi, K. Maeda, M. Yokota, R. Sakagami, Y. Hara, K. Noguchi, T. Furuuchi, T. Sasano, E. Imai, M. Ohmae, H. Koizumi, M. Watanuki and S. Murakami. Randomized Placebo-Controlled and Controlled Non-Inferiority Phase III Trials Comparing Trafermin, a Recombinant Human Fibroblast Growth Factor 2, and Enamel Matrix Derivative in Periodontal Regeneration in Intrabony Defects, *J Bone Miner Res.* 2015 Nov 7. doi: 10.1002/jbmr.2738.
3. Zheng W, Wang S, Ma D, et al. Loss of proliferation and differentiation capacity of aged human periodontal ligament stem cells and rejuvenation by exposure to the young extrinsic environment. *Tissue engineering Part A.* 2009 ; 15 : 2363-71.
4. Hynes K, Menicanin D, Gronthos S, et al. Clinical utility of stem cells for periodontal regeneration. *Periodontol 2000 .* 2012 ; 59 : 203-227.
5. Iwata T, Yamato M, Washio K, et al. Periodontal regeneration with autologous periodontal ligament-derived cell sheets –A safety and efficacy study in ten patients. *Regen Ther.* 2018 ; 9 : 38-44.
6. Taghi GM, Ghasem Kashani Maryam H, Taghi L, et. al. Characterization of in vitro cultured bone marrow and adipose tissue-derived mesenchymal stem cells and their ability to express neurotrophic factors. *Cell biology international.* 2012 ; 36 : 1239-49.
7. Okura H, Saga A, Fumimoto Y, et al. Transplantation of human adipose tissue-derived multilineage progenitor cells reduces serum cholesterol in hyperlipidemic Watanabe rabbits. *Tissue engineering Part C, Methods.* 2011 ; 17 : 145-54.
8. Ozasa M, Sawada K, Iwayama T, et al. Periodontal tissue regeneration by transplantation of adipose tissue-derived multilineage progenitor cells. *Inflammation Regenerat.* 2014, 34 : 109-116.
9. Sawada K, Takedachi M, Yamamoto S, et al. Trophic factors from adipose tissue-derived multi-lineage progenitor cells promote cytodifferentiation of periodontal ligament cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2015 ; 464 : 299-305.