HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Bone augmentation by highly porous β-TCP scaffold coated with PLGA and FGF2 [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	吉田, 崇
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第11263号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/56240
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Takashi_Yoshida_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称　　博士（歯学）　　氏　名　吉田　崇

学位論文題名

Bone augmentation by highly porous β-TCP scaffold coated with PLGA and FGF2

（高気孔性 PLGA/β-TCP スキャフォールドと FGF2 による骨増生効果）

（緒言）

β-TCP は骨補填材として歯科分野等で臨床応用され，その有効性が認められている.我々はポリウレタンフォームを用いて高気孔性（＞90%）のβ-TCP スキャフォールドを作製した．しかし，高気孔性スキャフォールドは，強度の低下によって再生空間が維持できなくなる可能性が高い．生分解性高分子化合物であるポリ乳酸グリコール酸共重合体（PLGA）は，易造形性であり，良好な生体内吸収性材料として知られている．PLGA で高気孔性スキャフォールドをコーティングで補強することで空間を維持できる可能性が考えられる．

Fibroblast Growth Factor 2 (FGF2)は細胞の増殖や生存，遊走，分化を高め，組織再生に関係があることが近年の研究で報告されている．そこでβ-TCP スキャフォールドを PLGA で補強した完全連通の高気孔性スキャフォールドに FGF2 を併用することで，さらに再生能力を向上させたバイオマテリアルになるのではないかと考えた．そこで本研究では，PLGA/β-TCP スキャフォールドを作製後，性質を評価し，またラットに埋入し，生体親和性，再生空間の維持，および骨再生効果を組織学的に評価した．またさらに FGF2 との併用効果も評価した．

（材料と方法）

β-TCP スラリーにポリウレタンフォームを浸漬し、ファーネスにて焼結してβ-TCP スキャフォールドを作製した．PLGA 粉末をアセトンに溶解させて 20%PLGA 溶液を作製した．真空下でβ-TCP スキャフォールドを PLGA 溶液に含浸させて乾燥させ，PLGA/β-TCP スキャフォールドとした．作製されたスキャフォールドの SEM 観察, XRD, TEM-EDX 分析，気孔率と圧縮強度の測定をした．

ラット背部皮下へスキャフォールド（2×2×2mm）を埋入し 10 日後にと殺し，病理組織観察で細胞の侵入程度を評価した．

さらに，骨増生効果を評価するためにラットの頭蓋骨上に規格化した皮質骨除去を行い，同時にβ-TCP スキャフォールド, PLGA/β-TCP スキャフォールド，それぞれに FGF2 を含浸させたものを埋植した．ネガティブコントロールは埋植しないものとした．

埋植 10 日および 5 週後，通法に従い薄切標本を作製し，ヘマトキシリン・エオジン重染色およびマッソントリクローム染色を行い光学顕微鏡下で観察し，組織学的計測を行った．

（結果と考察）

スキャフォールドの特性

SEM 観察ではβ-TCP スキャフォールドのセルは完全連通しており，フォーム表面にはβ-TCP の粒径と同程度でおよそ直径 2μm のマイクロポアが開孔していた．

XRD 分析の結果,β-TCP フォームとβ-TCP 粉末のピークは一致していたことから，焼結による phase transition は発生していないことが明らかになった．コーティング後の XRD も同じピークであった．TEM-EDX 分析の結果, PLGA コーティング後では C の検出が多く認められた．

β-TCP スキャフォールドの気孔率は平均 93%であった．PLGA コーティング後でも平均 92%でコー

ティング前後で有意差はみられなかった.一方，圧縮強度はコーティング後に６倍となり有意に上昇した.

ラット背部皮下埋植 10 日後での組織像ではスキャフォールド周囲に好中球やリンパ球の浸潤はほとんどみられなかった．また、各スキャフォールド内部へ多数の細胞が侵入して，多核の giant cell も観察された.　生体親和性は良好であると考えれた．またスキャフォールド周囲には giant cell が観察された.

ラット頭蓋部埋植後の組織変化

術後 10 日では，β-TCP スキャフォールドと PLGA/β-TCP スキャフォールドでは、皮質骨を除去した部位に新生骨は認められなかったが, FGF2 を添加した群では新生骨の形成が認められた。

術後５週では，すべての群において皮質骨を除去した部位に対して骨増生がみられた．β-TCP スキャフォールド群では PLGA をコーティングしていない群と比較して残存試料が圧縮されているのが確認された．残留したスキャフォールドの内部は giant cell と結合組織のイングロースが確認された.

β-TCP スキャフォールドおよび PLGA/β-TCP スキャフォールドに FGF2 を添加した群では多量の新生骨形成が認められた．残存したスキャフォールドは PLGA コーティング後の方が多く確認され,TCP のみの群は残存スキャフォールドはわずかであった. Control 群は削った皮質骨部分に骨増生は認められなかった.

組織学的計測結果では,β-TCP スキャフォールド及び PLGA/β-TCP スキャフォールドを埋入することにより, control 群と比較して，新生骨高さはそれぞれ２から４倍の増加が見られた．また，PLGA/β-TCP スキャフォールド＋FGF 群はβ-TCP スキャフォールド＋FGF 群よりも新生骨高さが大きかった.

残存試料高さは PLGA に FGF2 を添加したものが有意に大きい結果となった．血管数は FGF を添加した群のほうが大きい傾向がみられた. giant cell 数は PLGA コーティングに FGF を添加した群の方が有意に大きい結果となった.

本研究では高気孔性β-TCP スキャフォールドに 20%PLGA でコーティングを行った結果, 生体親和性と気孔率に変化はなく圧縮強度を向上することができた．これは 20%PLGA に為害性が認められず，β-TCP スキャフォールドの連続気孔を維持したままコーティングできたからと考えられた．この PLGA/β-TCP スキャフォールドと FGF2 とのコンビネーションによりスペースメイキング効果と骨増生効果が向上した．これは圧縮強度が向上したスキャフォールド内に FGF2 がより長期に保持され，早期に細胞がイングロースし，スキャフォールドの形態維持に効果があったためと考えられた.

（結論）

PLGA/β-TCP スキャフォールドと FGF2 との併用は，骨再生療法において効果的であると考えられる.