



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Periodontal tissue engineering by nano beta-TCP scaffold and fibroblast growth factor 2 in 1-wall infrabony defects of dogs [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	小川, 幸佑
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第11711号
Issue Date	2015-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/59024
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Kosuke_Ogawa_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士 (歯学) 氏名 小川 幸佑

主査 教授 川浪雅光
審査担当者 副査 教授 田村正人
副査 教授 網塚憲生

学位論文題名

Periodontal tissue engineering by nano beta-TCP scaffold and
fibroblast growth factor 2 in 1-wall infrabony defects of dogs
(イヌ1壁性骨欠損におけるナノ β -TCP スキャフォールド
およびFGF2を用いたPeriodontal tissue engineering)

審査は主査、副査全員が一同に会して口頭で行った。まず申請者に対して本論文の概要の説明を求め、申請者は以下の通り論述した。

組織再生用スキャフォールドの表面にナノサイズの構造を付与する事で、圧縮強度、生分解性、細胞侵入性、骨伝導性が向上する報告がある。さらに、歯周組織再生用の人工骨として用いられる β -リン酸三カルシウム (β -TCP) の粒子をナノサイズにしてコラーゲンスキャフォールドをコーティングすると、ラットの頭蓋骨において有意に骨増生を引き起こしたことが報告されている。一方、線維芽細胞増殖因子 (FGF2) は、細胞の増殖や血管新生、骨形成を促進し、歯周組織の再生に有効であると報告されている。

本研究では、コラーゲンスキャフォールドをナノ β -TCP でコーティングした歯周組織再生用スキャフォールドを作製し、FGF2 と併用して、イヌ 1 壁性骨欠損モデルへ埋植した場合の歯周組織再生について検討した。

コラーゲンスキャフォールド (6×6×3mm) をナノ β -TCP(1wt%)分散液に浸漬し、洗浄、乾燥して、ナノ β -TCP スキャフォールドを作製した。まずスキャフォールドの特性評価を行った。SEM によりナノ β -TCP 粒子がスキャフォールドのコラーゲン線維に付着している様子が観察された。ナノ β -TCP スキャフォールドはコラーゲンスポンジと比較し圧縮強度が有意に大きく、気孔率の低下は認めなかった。

細胞親和性の評価として、ナノ β -TCP スキャフォールドおよびコラーゲンスキャフォールドに 1 万個の MC3T3E1 細胞を播種、培養して、24 時間後に SEM 観察を行うと、スキャフォールド表面に細胞が良好に付着、伸展しているのを認め、また 24 時間後、72 時間後に行ったプロリフェレーションアッセイでは、コラーゲンスキャフォールドと比較してナノ β -TCP スキャフォールドにおいて有意に大きい値となり、細胞増殖性の向上を示した。生体親和性、細胞や組織の侵入性の評価として、ラット背部皮下埋植実験を行った。実験

群としてナノ β -TCP スキャフォールド、および FGF2 (50 μ g/pcs) 含有ナノ β -TCP スキャフォールド、対照群としてコラーゲンスキャフォールドをラット背部皮下に埋植した。観察期間は 10 日とし、組織学的観察、および取り出したスキャフォールドの DNA 量の測定を行った。ナノ β -TCP コーティングにより線維芽細胞やマクロファージのイングロースは増加した。FGF2 を併用するとイングロースはさらに増加し、また活発な血管形成を認めた。

次に、イヌ 1 壁性歯周組織欠損モデルにおける歯周組織再生効果の評価を行った。イヌ下顎前臼歯に 1 壁性骨欠損（幅 3mm、高さ 5mm）を作製して、露出根面をルートプレーニング後、EDTA で処理した。その後、各群のスキャフォールドを埋入した。観察期間は 4 週とし、組織学的観察を行った。また新生骨高さ、新生骨面積、セメント質様組織、線維性結合組織について計測を行い、統計学的分析を行った。コントロール群では、骨やセメント質の形成は根尖側に限局し、著しい歯肉退縮を認めた。ナノ β -TCP スキャフォールド群では、骨やセメント質などの歯周組織の形成量が増加し、歯肉退縮を抑制した。FGF2 併用群では歯周組織形成量が最大となった。いずれの群においても、病的歯根吸収やアンキローシスは認めなかった。

本研究では、ナノ β -TCP でコーティングする事により、コラーゲンスキャフォールド単体に比較して細胞の増殖、組織のイングロースが増加し、スキャフォールドにナノ構造が付与されたことが、細胞活性を向上させたと考えられた。またナノ β -TCP スキャフォールドは、圧縮強度の向上に加え、歯周組織においても早期に周囲から組織がイングロースして強度がさらに向上したことが、イヌ 1 壁性骨欠損モデルにおいて歯肉退縮を抑制し、歯周組織の形成を促進したと考えられた。さらに FGF2 を併用すると、細胞増殖や血管形成、骨形成を刺激し形成量をさらに増加させたものと考えられた。

以上より、ナノ β -TCP スキャフォールドと FGF2 の併用は Periodontal tissue engineering に有効であることが示された。

引き続き審査者と申請者の間で、論文内容及び関連事項について質疑応答がなされた。主な質問事項は、

- ① 使用した薬品や材料の作製方法について
- ② 組織標本の作製方法と改善法について
- ③ 組織学的所見のとり方について
- ④ 臨床における歯周組織再生療法の手技について

これらの質問に対して、申請者は適切な説明によって回答し、本研究の内容を中心とした専門分野はもとより、関連分野について十分な理解と学識を有していることが確認された。本研究の内容は、現在、再生治療が困難となっている 1 壁性骨欠損の治療への新たな可能性を示し、歯科医学の発展に十分貢献するものであり、審査担当者全員は、学位申請者が博士（歯学）の学位を授与されるに値するものと認めた。