HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Biocompatibility and bone conductive ability dose effects of beta-TCP nanoparticles applied on 3D scaffold. [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	村上, 秀輔
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第12159号
Issue Date	2016-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/62184
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Shusuke_Murakami_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

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　村　上　秀　輔

審査担当者　主査　教授　川　浪　雅　光
副査　教授　網　塚　憲　生
副査　教授　吉　田　靖　弘

学　位　論　文　題　名

Biocompatibility and bone conductive ability dose effects of beta-TCP nanoparticles applied on 3D scaffold.

（　β-三リン酸カルシウムナノ粒子含有量の違いがスキャフォールドの生物学的特性と骨伝導性に及ぼす効果　）

審査は,審査担当者全員の出席の下,はじめに申請者より提出論文の概要の説明が行われ,審査担当者が提出論文の内容および関連した学問分野について口頭により試問する形式で行われた。

β-三リン酸カルシウム（β-TCP）は骨伝導性に優れた吸収性セラミックであり，これまでにコラーゲンスキャフォールドをβ-TCP ナノ粒子でコーティングすることで生物学的特性が向上し，骨増生や歯周組織再生が促進する可能性が報告されている。また，ナノ材料の適用量は，生体適合性に重要な役割を果たしていることが報告されている。そこで本研究では濃度の異なるβ-TCP ナノ粒子分散液でコラーゲンスキャフォールドをコーティングし，生体親和性および骨増生効果を評価した。

β-TCP 粉末を平均粒径 85 nm に粉砕後，異なる濃度の分散液（1，5，10，25wt%）を作製し，コラーゲンスキャフォールドに注入して乾燥させた。それぞれ TCP1，TCP5，TCP10，TCP25 とした。SEM 観察ですべてのスキャフォールドのコラーゲン線維表面にナノサイズのβ-TCP 粒子の付着が認められた。TCP25 においては内部空間に凝集したβ-TCP 粒子が確認された。全てのスキャフォールドは高気孔率を維持し，重量，圧縮強度，コラゲナーゼ抵抗性，カルシウム（Ca）溶出量はβ-TCP 含有量依存的に増加した。また，MC3T3-E1 細胞による細胞増殖の結果，TCP10 が最も良好であった。

ラット結合組織内へ埋植した結果，TCP5，TCP10 において多数の細胞や血管の ingrowth が観察された。TCP25 ではスキャフォールド表層にマクロファージ等の炎症性細胞を多く認め，中心部では細胞の ingrowth は認めなかった。免疫染色の結果では，TCP5 でスキャフォールド内部の血管内皮細胞，平滑筋細胞，線維芽細胞が多く認められた。

ラット頭蓋骨埋植試験において，術後 10 日では，全ての TCP 群でスキャフォールドを維

持することができた。また,TCP25 は,創部の腫脹や白血球の浸潤などの炎症所見を示した。術後 35 日では，新生骨形成は TCP10 で最も多く，ALP 染色では ALP 活性のある骨芽細胞が豊富に確認された。一方 TCP25 では骨形成は少なかった。また,残存試料面積は TCP5,TCP10 で低い値を示した。

β-TCP ナノ粒子コーティングは高気孔性の維持と，β-TCP ナノ粒子含有量依存的に圧縮強度，コラゲナーゼ抵抗性が増加し，スペースメイキング性能が向上した。TCP5，10 においてナノ粒子コーティングにより，生体親和性，ingrowth および組織置換性を向上させることが確認され，新生骨形成も促進された。しかし，高含有量ではβ-TCP 粒子が凝集することでナノサイズ効果が失われたと考えられる。

以上より，β-TCP ナノ粒子含有量は細胞の ingrowth，およびスキャフォールドの吸収性と組織置換性に強く影響を与え，骨増生のためには 5-10wt%分散液のコーティングが有効であることが示唆された。

審査者と申請者の間で，論文内容及び関連事項についてなされた主な質疑応答を以下に示す。

Q1. 気孔率はどうやって調べたか。
Q2. コラーゲンとβ-TCP は均一に付着しているのか。
Q3. Ca イオン溶出量に関して，コラーゲンからβ-TCP が離れている可能性はないのか。
Q4. 今回使用した細胞増殖試験の原理はなにか。
Q5. ペルオキシダーゼ染色でマクロファージは染色されるのか。
Q6. ALP 染色は何の抗体を使用しているのか。
Q7. 骨増生試験においてなぜ術後 10 日だとスキャフォールド内部に多量な炎症性細胞が認められるのに，術後 35 日ではなくなっているのか。

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知識を有していることが確認された。本研究の内容は，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。