



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	The osteogenic potential of Phosphorylated-Pullulan/ β -TCP composite scaffolds and low doses of Bone Morphogenetic Protein-2 (BMP-2) in subcutaneous tissues [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Alruwaili, Mohammed Katib R
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第15490号
Issue Date	2023-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/89525
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Mohammed_Alruwaili_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 Mohammed Katib Alruwaili

主査 教授 菅谷 勉
審査担当者 副査 教授 網塚 憲生
副査 教授 吉田 靖弘

学 位 論 文 題 名

The osteogenic potential of Phosphorylated-Pullulan/ β -TCP composite scaffolds and low doses of Bone Morphogenetic Protein-2

(リン酸化プルラン/ β -TCP 複合スキャホールドと低用量骨形成タンパク質 2 による骨形成)

審査は、審査担当者全員の出席の下、公聴会形式で行われた。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。

骨形成タンパク質（BMP）は骨誘導能が高く優れた骨形成能を有するが、深刻な合併症も報告されている。現在は生体適合性と分解性に優れるコラーゲンスポンジがrhBMP-2の担体として臨床応用されているが、コラーゲンスポンジはrhBMP-2 の担持が不十分との指摘もあり、そのことも副作用の発現に関与している可能性がある。

そこでまず、rhBMP-2 の担体としてコラーゲンスポンジを用いた場合に、骨形成能を発揮するrhBMP-2 の下限濃度を評価することを目的として実験 1 を行った。rhBMP-2（Infuse® Bone Graft, Medtronic）の濃度を0、メーカー指示の1/30、1/10、1倍とし、コラーゲンスポンジに含浸して10週齢雄性ラットの背部皮下結合組織に移植した。1、4週後にmicro-CTによる硬組織形成の評価と組織学的分析を行った結果、手術後4週における骨形成量は、1/10の濃度のrhBMP-2では約1/4と有意（ $p<0.05$ ）に減少し、1/30の濃度では骨形成はみられなかった。このことから、コラーゲンスポンジを担体とした場合にはrhBMP-2の濃度を低下させると骨形成量が不十分になることが明らかとなった。

一方、リン酸化プルラン（PPL）はrhBMP-2の担体として優れた効果を発揮すると考えられるが、分子量によって吸収性や物性が異なることから、骨形成量にも影響する可能性がある。そこで、実験 2 では分子量の異なるPPLをrhBMP-2の担体とし、骨形成能と吸収性を組織学的に評価した。分子量600,000と600,000 + 100,000のPPLを1:3（PPL1-3群）または1:5（PPL1-5群）で混合し、両群ともメーカー指定濃度のrhBMP-2を添加後、CaCl₂を2%混合してゲル化させるとともに、 β -TCP顆粒を混和して、パテ状の複合移植材とした。移植材を10

週齢雄性ラットの背部皮下結合組織内に移植し、2週後に骨形成量と移植材の残存量を組織学的に計測した。その結果、骨形成量はPPL1-5群がPPL1-3群の約4倍と有意($p < 0.05$)な増加を示したことから、rhBMP-2の担体としてPPL1-5群の方が優れていると考えられた。

次に、PPL1-5群で用いた担体は、rhBMP-2の濃度を低下させても十分な骨形成効果が得られる可能性があると考え、実験3ではrhBMP-2の濃度と骨形成量の関係を検討した。PPL/ β -TCP複合化材料は実験2のPPL1-5群と同様で、rhBMP-2の濃度をメーカー指定の1, 1/10, 1/30, 1/50, 0倍とし、それぞれBPT1, BPT2, BPT3, BPT4, BPT0群とした。BPT群と同じrhBMP-2濃度でコラーゲンスポンジを担体としたものを、それぞれBC1, BC2, BC3, BC4, BC0群とした。各移植材を10週齢雄性ラットの背部皮下結合組織に移植し、2週後にmicro-CTによる評価と組織学的分析を行った。その結果、BPT群ではBC群に比べて、すべての濃度で骨形成量が有意($p < 0.05$)に多かった。また、メーカー指定濃度のrhBMP-2を用いたBPT1群は、1/10の濃度のBPT2群の約4倍の骨形成量が得られ、さらにメーカー指示の使用法であるBC1群の骨形成量はBPT2群とほぼ同じであり、PPL/ β -TCP複合化材料を用いることで、rhBMP-2濃度を1/10に低下させることが可能であった。

以上の結果から、rhBMP-2を用いた骨形成において、PPL/ β -TCP複合化材料はコラーゲンスポンジよりきわめて優れていることが明らかとなり、rhBMP-2による骨再生のコストや副作用の解決に大きく貢献する可能性が示唆された。

審査者から論文内容及び関連事項について以下の質問が行われた。

- (1) PPL/ β -TCPを用いるとBMP-2による骨形成量が増加するメカニズムについて
- (2) BMP-2はPPLと β -TCPのどちらに担持されているのか
- (3) PPL/ β -TCPとrhBMP-2を組み合わせることで大きな骨欠損の再生が可能となるか
- (4) PPLと骨の親和性について
- (5) PPL/ β -TCPとrhBMP-2による長管骨における骨欠損部再生について
- (6) PPL/ β -TCPの操作性について
- (7) Infuse[®] Bone Graftの操作性について

申請者は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。本研究では、リン酸化プルランと β -TCPを用いることでrhBMP-2による骨形成効果が大きく向上することが示され、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。