HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	リン酸化プルランと塩基性線維芽細胞増殖因子のOnlay Graftによる骨増生［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	竹中, 裕喜
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第15955号
Issue Date	2024-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/92554
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Hiroki_Takenaka_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　竹中　裕喜

審 査 担 当 者　　主査　特任教授　菅谷　勉
副査　　教授　　網塚 憲生
副査　　教授　　吉田 靖弘

学 位 論 文 題 名

リン酸化プルランと塩基性線維芽細胞増殖因子の Onlay Graft による骨増生

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．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．

塩基性線維芽細胞増殖因子（bFGF）は血管新生や骨芽細胞，未分化間葉系細胞などの増殖を促進することから，歯周組織再生に応用されている．しかし，大きな歯周組織欠損に対して十分な再生量が得られているとは言えないのが現状である．一方，皮質骨を穿孔し骨髄腔からの細胞を欠損部に導入する方法は，歯槽骨増生で有効性が認められ広く用いられている．したがって，皮質骨穿孔と bFGF を併用すると，骨髄由来間葉系細胞や血管を欠損部に誘導して再生量を増加できる可能性がある．しかし，現在の bFGF 製剤は流動性が高いため，出血により欠損局所に滞留できないため皮質骨穿孔は推奨されていない．一方，リン酸化プルラン(PPL) は βTCP 顆粒を混和するとパテ状になり，出血があっても骨欠損局所で形態が維持されると考えられる．また，分子量を変えることで吸収性や物性の調整が可能なことから，PPL をパテ状にして bFGF の担体とし，骨髄腔へ穿孔して骨欠損部に移植することで，再生効果を向上できるのではないかと思われる．そこで本研究では，ラット頭蓋骨の皮質骨を穿孔し，bFGF と塩化カルシウム，βTCP 顆粒を複合化した PPL を onlay graftして，PPL 内への血管新生，細胞侵入，骨形成に及ぼす効果を検討するとともに，PPLを担体とした場合の bFGF の至適濃度を検討した．

分子量 32 万と 100 万の PPL を等量混和し，塩化カルシウム，注射用水，bFGF(トラフェルミン）を 0，0.01，0.03，0.1 %加え，βTCP を混和してパテ状の移植材を作製した．ラット頭蓋骨に直径 0.25㎜ で 9 か所を皮質骨穿孔した．移植材で骨穿孔部を全て被覆して，7 日，28 日後に HE 染色を行なって光学顕微鏡観察を行なうとともに，28 日の試料については頭蓋骨上面の骨形成高さを計測した． 7日後の bFGF

0 %と 0.01 %では，わずかに血管が認められる程度であった．bFGF 0.03 %では頭蓋骨上の結合組織は細胞に富んでおり，類円形や方形の細胞，新生血管が多数みられた．bFGF 0.1 %では，皮下結合組織の直下付近まで密な結合組織がみられ，類円形の細胞や血管が多数観察された．28 日後の bFGF 0 %および 0.01 %では，頭蓋骨上に新生骨は見られなかった．0.03 %と 0.3 %では，厚い新生骨が見られ，新生骨と頭蓋骨の間には結合組織が介在している部分が多く，新生骨の結合組織側には卵円形や方形の骨芽細胞様細胞が多数配列していた．28 日後の新生骨の高さは，0.03 %は 0 %より有意（$p<0.05$）に高く，0.1 %は 0 %および 0.01 %より有意（$p<0.05$）に高かった．

臨床応用されている bFGF 製剤は 0.3%が最も新生骨形成に有効とされているが，本実験では0.03 %や0.1 %で血管新生効果や骨形成効果が最も高かったことから，PPL を担体とした場合にはより低濃度で同等の効果が得られる可能性があると考えられた．さらに，28 日後の bFGF 0.1%では頭蓋骨と新生骨の間に結合組織の介在がみられたことから，bFGF によって PPL 内に誘導された細胞が直接骨芽細胞へ分化し骨を形成した可能性が示唆された．

以上の結果から，リン酸化プルランと塩化カルシウム，βTCP の複合体を bFGF の担体とし，皮質骨穿孔を行って onlay graft に用いることは骨形成に有効であり，この場合の bFGF の至適濃度は 0.03～0.1%であることが明らかとなった．

審査者から以下のような質問がなされた．

1. 骨形成は骨髄腔由来細胞と骨膜由来細胞のどちらから生じたのか
2. 血管新生と骨形成との関係について
3. bFGFはリン酸化プルランに結合しているのか
4. 0.3% bFGFが0.1%や0.03%より効果が劣る理由
5. bFGF濃度を低下させることが可能なことの利点
6. βTCPが骨形成に果たした役割
7. 本移植材の組成で最も効果的な組み合わせ
8. リグロスと比較して再生効果は期待できるか
9. 今後の臨床応用の可能性

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，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．