



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	リン酸化プルラン／塩化カルシウム／ β -TCP／BMP-2 複合体移植によるBMP 濃度の低減と垂直的骨造成の検討
Author(s)	原田, 天乃
Description	この博士論文の全文は利用可能日以降に公開されます。利用可能日以前の閲覧方法は https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/ をご参照ください。
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第16938号
Issue Date	2026-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16938
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/99783
Type	doctoral thesis
File Information	Amano_Harada_abstract.pdf, 論文内容の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/



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 原田 天乃

学 位 論 文 題 名

リン酸化プルラン／塩化カルシウム／ β -TCP／BMP-2 複合
体移植による BMP 濃度の低減と垂直的骨造成の検討

キーワード（5つ） リン酸化プルラン , BMP2 , Onlay graft ,
骨形成 , β TCP

骨形成タンパク質（bone morphogenetic protein-2：BMP）は優れた骨形成効果を有する一方で、単独では骨形成前に代謝や流出されるため、適切な担体により局所滞留性と徐放性を付与することが不可欠である。コラーゲンスポンジは現在 BMP 製剤で使用されている唯一の担体であるが、機械的強度が低く再生スペースの維持が困難であることから高用量での使用が避けられず、過剰な骨形成や腫瘍発生リスクの増大といった問題が指摘されている。一方リン酸化プルラン(phosphorylated pullulan：PPL)は生体吸収性ポリマーであり、生体親和性が高く、CaCl₂ と混和することでゲル化し、 β -TCP の混和量を増やすことでパテ状や硬質ゴム状にすることができ、賦形性や機械的強度を調整することが可能である。これを BMP の担体とすることで、コラーゲンスポンジの課題を克服できる可能性に着目し、本研究を行った。まず実験 1 として、PPL を BMP-2 の担体として用いた際に、PPL の分子量や β -TCP 添加の有無、さらに BMP-2 濃度の違いが骨形成に及ぼす影響を検討した。分子量 32 万の PPL (PPL1)、分子量 100 万の PPL (PPL2)、両者を 1：1 で混合した PPL3、および PPL3 に β -TCP を混和した PPL4、さらにアテロコラーゲンスポンジを担体として用いた。BMP-2 濃度は、メーカー指定濃度（1.167 mg/mg）、0.1167 mg/mg、0.056 mg/mg、および 0 mg/mg の 4 段階を設定し、合計 20 種類の移植材を作製した。移植材は 4 × 4 × 2 mm とし、9 週齢 Wistar 系雄性ラット背部皮下に移植した。6 週後にマイクロ CT により不透過像の有無を評価し、BMP-2 濃度および担体の種類が骨形成に与える影響を二項ロジスティック回帰分析により検討した。実験 1 の結果、PPL4 はすべての BMP-2 濃度において最も高い不透過像検出率を示し、メーカー指定の

BMP-2 濃度では 100%, 1/10 濃度でも 80%以上, 1/20 濃度でも 60%以上の骨形成が認められた。一方, PPL1 および PPL2 はメーカー指定濃度でのみ骨形成が認められ, 濃度を低下すると検出率が著しく低下した。PPL3 もメーカー指定濃度の 1/20 では不透過像を認めなかった。コラーゲンスポンジはメーカー指定濃度においても 67%の検出率であった。ロジスティック回帰分析では, BMP-2 濃度 ($p < 0.001$) および担体の種類 ($p = 0.048$) が不透過像検出率に有意な影響を与えており, とくに PPL1, PPL2, PPL3 はいずれも PPL4 に比較して有意に骨形成効果が低いことが示された。しかし, Collagen と PPL4 では有意差はなかった。続いて実験 2 では, PPL と BMP-2 を頭蓋骨上に onlay graft し, 垂直的な骨造成が可能かを評価した。実験 1 で最も良好な結果を示した PPL4 を担体とした PPL+BMP 群と, メーカー指示に従ってアテロコラーゲンスポンジを担体とした Col+BMP 群を設定した。いずれもメーカー指定濃度の BMP-2 (1.167 mg/mg) を含有させ, 一辺 5 mm の立方形の移植材を作製した。ラット頭蓋骨上に onlay graft し, 観察期間は 1 週および 6 週として, 6 週例ではマイクロ CT 画像および組織標本を用いて新生骨の高さと面積を計測した。マイクロ CT による評価では, Col+BMP 群の新生骨は薄く偏平で限局的であったのに対し, PPL+BMP 群では頭蓋骨上に半球状の大きな骨膨隆が形成され, 既存骨と連続した骨増生が確認された。新生骨の高さの中央値 (四分位範囲) は, Col+BMP 群 1.02 (0.82–1.13) mm に対し, PPL+BMP 群は 4.41 (2.10–6.26) mm と有意に高値を示した ($p = 0.003$)。新生骨面積も Col+BMP 群 8.61 (7.00–8.91) mm² に対し, PPL+BMP 群 32.47 (14.80–58.19) mm² と有意な増加が認められた ($p = 0.027$)。組織学的には, 1 週後の Col+BMP 群で頭蓋骨表面に薄い新生骨がみられ, その表層には線維芽細胞様細胞が観察された。これに対し PPL+BMP 群では, 頭蓋骨上に大きな塊状構造が形成され, 皮膚は大きく膨隆しており, 移植材中には多数の紡錘形細胞や方形の細胞が集簇していた。新生骨は頭蓋骨近傍にわずかに観察されるのみであった。6 週後には, PPL+BMP 群において新生骨内部の PPL はほぼ消失し, β -TCP もわずかに散在するのみで, 移植材の大部分が骨に置換されていた。組織計測結果では, 新生骨の高さは, Col + BMP 群が 0.66 (0.63–0.90) mm, PPL + BMP 群が 3.71 (2.14–4.21) mm で有意 ($p = 0.004$) に PPL + BMP 群が高かった。新生骨の面積は, Col + BMP 群が 3.06 (2.38–6.65) mm², PPL + BMP 群が 18.81 (9.97–30.97) mm² で有意 ($p = 0.007$) に PPL + BMP 群が大きかった。以上の結果から, BMP-2 の担体として分子量 30 万と 100 万の PPL をそれぞれ単独で用いるより, 混和するとともに β -TCP を加えることで, 骨形成効果が向上することが示された。また, PPL に β -TCP を混和して BMP-2 の担体として頭蓋骨上に移植すると, 大きな骨の膨隆が得られ, コラーゲンスポンジを担体とした場合より有意に高い骨形成能を示した。頭蓋骨上で明瞭な垂直的骨造成が得られたことから, 従来骨造成が困難であった症例への応用が示唆されるとともに, BMP-2 使用量を減少させ, 副作用の低減にも貢献すると考えられた。