

論文審査の要旨および担当者

愛知学院大学

報告番号	甲 ⑦ 第 号	論文提出者名	ICHINNOROV CHIMEDTSEREN
論文審査 委員氏名	主査 前田初彦 副査 本田雅規 夏目長門		
論文題名	Collagen type I-based recombinant peptide promotes bone regeneration in rat critical-size calvarial defects by enhancing osteoclast activity at late stage of healing		

インターネットの利用による公表用

歯槽突起裂（以下顎裂）は妊娠6週から10週にかけての内側鼻突起と外側鼻突起の癒合不全に起因する先天異常である。口唇口蓋裂一貫治療において、顎裂は骨移植を行うことによって修復される。これまでにハイドロキシアパタイトや β -TCP等の材料が開発されてきたが、新たにI型コラーゲンベースの組換えタンパク質 recombinant protein (RCP)が開発された。

申請者は、ラットの頭蓋冠欠損モデルを用い、12週にわたって骨形成能、骨誘導能、および生分解性を解析することにより、顎裂形成術の移植材料としてのmRCPの適性を評価することを目的とした。さらに、炭酸アパタイト (carbonate apatite、以下CA) を主成分とする骨補填材料であるCytrans Granules® (GC, 東京) とその性能を比較を行っていた。

9週齢雄のSD系ラットを無作為にmRCP移植群(n=15)、CA移植群(n=15)、対照群(n=9)に分けた。

評価はマイクロCT Cosmo Scan GXを用い、移植直後と移植後4、8、12週目にて決定していた。

ラットは移植後4、8、12週で炭酸ガスを用い安楽死させ、ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色を行った。評価においては欠損部位全体の新生骨量と総新生骨量(CA顆粒を含む新生骨量)、中央部と左右2つの辺縁部、骨膜側と硬膜側の新生骨量を測定し、さらに欠損部に残存する移植材料の量を測定していた。

新たに形成された骨中の破骨細胞は酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ

(TRAP) 染色、骨芽細胞はアルカリホスファターゼ (ALP) 染色を用いて検出していた。

術後 4、8、12 週の時点で、mRCP 群の ROI 内の新生骨量は CA および対照群の新生骨量よりも有意に多かった。CA 群では、手術後 4 週と 12 週の間で新生骨量に有意な増加が見られた。術後 12 週では CA 群と mRCP 群の全骨量は同等であったと報告していた。

HE 染色を施した組織切片像より、mRCP 群では移植後 4 週で明らかな新生骨の形成が認められ、mRCP 群の新生骨量 (切片上の面積) は、どの時点においても CA 群および対照群より有意に多かった。CA 群の新生骨量は術後 4 週目で対照群の新生骨量より有意に多く、その後も経時的に有意な増加が認められた。新生骨の面積は、評価期間中のすべての時期で mRCP 群と CA 群において対照群よりも大きいとの結果を得ていた。

骨の再生や代謝には破骨細胞と骨芽細胞が協調して働く必要があるため、新生骨における破骨細胞と骨芽細胞の存在が確認され、mRCP 群では CA 群および対照群と比較して有意に多くの骨芽細胞が検出された。破骨細胞の数は、mRCP 群では移植後 8 週でピークに達し、これは mRCP の吸収のタイミングのピークと一致していた。ALP 陽性で示される骨芽細胞が占める領域については、mRCP 群では術後 4 週および 8 週で CA 群および対照群よりも有意に大きかった。CA 群と対照群の ALP 陽性領域は、観察された期間内には有意な変化はなく、両群間の統計的な差異も検出されなかった。

顎裂形成術では、骨または骨に代わる人工移植材料の移植後、十分な骨密度が達成され、かつ移植片の吸収が完了していない移植後 12 週頃に矯正歯科治療を開始する。本研究では移植 8 週後に残存 mRCP の大幅な減少と新生骨の増加が観察された。これは、評価期間の後期段階の 8 週後に至るまで、骨リモデリングを促すのに十分な材料が残っていたことを示唆し、この点でも mRCP が移植材料として適していることを示唆していた。

移植後 4 週目に TRAP 陽性細胞が検出されたことから明らかなように、mRCP 粒子は移植部位で破骨細胞の活性化を誘導した。骨形成細胞を誘導する能力の相違は、CA が強固で緻密な構造であること、mRCP に比べて生分解性が低いためその後の骨形成のスペースが制限されることなど、上述の特性に起因すると考えられる。したがって、本研究の結果は、mRCP が十分な骨形成を誘導する独自の特性を持つ汎用性の高い骨移植材であることを示していた。

顎裂骨移植は、歯肉と口蓋粘膜骨膜のフラップと、骨移植後のそれらの閉鎖を伴い、骨膜と脱落した骨からなる壁が移植材と接触する空間を形成する。骨膜の構造内には、骨修復過程に寄与する骨芽細胞や骨形成細胞が存在する。このような骨形成細胞の供給源は、顎裂の骨修復を成功させるために重要であると考えられる。我々は、mRCP の移植が、CA の移植や移植を受けない対照群よりも素早く骨欠損部に骨形成反応を誘導することを示

(論文審査の要旨)

No.4.....

(2000字以内のこと)

愛知学院大学

し、ヒトの顎裂修復に適した材料である可能性を示唆した。本研究により mRCP が十分な骨誘導能を有することが明らかとなり、さらに移植材料としての使用に際し病原体による汚染のリスクもないことから、mRCP はヒトの顎裂形成術において有用と考えられた。

本研究は、骨移植材としての mRCP の有用性を 12 週間にわたり検証し、CA と比較して、mRCP がより効率的に新生骨形成を誘導できることを実証した。さらに、CA 顆粒を測定に含めた場合でも、mRCP は治癒期間終了時に同レベルの骨形成を示した。このことは、mRCP が適当な時間に骨形成細胞の分化を誘導するのに適しており、口唇口蓋児の顎裂部の新たな治療法となりうることを示唆している。mRCP によって誘発される骨形成シグナル伝達を正確に確認するには、さらなる検証が必要と考えられた。

以上より、本研究では、口腔病理学、口腔解剖学、口腔外科学ならびに関連諸学科にも寄与することは大きい。よって本論文は、博士（歯学）の学位授与に値するものと判定した。