



氏 名 中 谷 寛 之 (昭和48年 8月13日生)
 本 籍 地 埼 玉 県
 学 位 の 種 類 博士 (歯学)
 学位 授与 番号 岩医大院歯博第190号
 学位授与の日付 平成15年 3月25日
 学位授与の条件 学位規則第 4条第 1項該当者 (博士課程修了者)
 学位論文題目 骨形成蛋白質 (BMP) を用いた顎骨再生に関する実験的研究

論文内容の要旨

I. 研究 目 的

近年、骨欠損に対するサイトカインを用いた骨再生の研究が行われている。その中でも、骨形成蛋白質 (BMP) は強力な骨形成促進作用を有していることが知られている。そこで、本研究は rhBMP-2 を用いた犬下顎骨骨欠損に対する骨再生の有用性を骨塩定量、元素分析、X 線学的、組織学的検索を用いて評価した。

II. 研 究 方 法

実験動物には、生後1年、雄性ビーグル犬を6頭用いた。移植片は、 β -リン酸三カルシウム (β -TCP) に rhBMP-2 100 μ g, 3%アテロコラーゲン0.5mlを混合させたものを用いた。実験方法は、先ず下顎第3, 第4前臼歯を抜去した。抜歯12週後、近遠心径20mmの骨欠損を作製し、実験群に従い移植片を挿入した。実験群は、移植片に rhBMP-2 を含む含有群, rhBMP-2 を含まない非含有群, 対照群は、骨欠損を作製しないものとした。移植12週後、実験動物を屠殺し、下顎骨を摘出後、以下の検索方法を用いて移植部の評価を行った。

1. 軟 X 線撮影

摘出した下顎骨を軟 X 線装置にて撮影後、観察した。

2. 二重エネルギー X 線吸収測定法 (DEXA 法) を用いた骨塩定量

摘出した下顎骨に移植部を含めた関心領域を、近遠心的に約20mmの幅で設定し、面積、骨塩量 (BMC)、単位面積あたりの骨塩量 (BMD) を測定した。

3. 粒子励起 X 線分光法 (PIXE 法) を用いた元素分析

摘出した下顎骨移植部を切断後、硝酸灰化法を行い、元素分析のための試料を作製した。作製した試料を PIXE 法を用いて測定し元素分析を行った。

4. マイクロフォーカス X 線 CT 撮影

摘出した下顎骨移植部を、マイクロフォーカス X 線 CT 装置にて撮影後、観察した。

5. 組織学的観察

摘出した下顎骨移植部の、H-E 染色による組織標本を作製し、光学顕微鏡で観察した。

III. 研 究 成 績

- 軟 X 線所見において含有群では、移植部は全体的に X 線不透過性を示すが、移植底部は皿状に吸収されており、梁状の新生骨が観察された。一方、非含有群でも移植部は全体的に X 線不透過性を示すが、含有群と比較して X 線不透過性が強く、移植底部の皿状の吸収、梁状の新生骨は不明瞭であった。また、含有群、非含有群ともに移植片と骨の境界は不明瞭であった。対照群では、X 線不透過性の強い線が、抜歯窩に沿って認められるが、抜歯窩上方は X 線透過像を示し、抜歯窩と歯槽骨の判別は不可能であった。
- DEXA 法による骨塩定量において、移植部を含めた関心領域の面積の平均で、非含有群は対照群と比較し、有意に低い値を示した ($p < 0.01$)。BMC では、含有群は非含有群に比較し、非含有群は対照群に比較し、有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。BMD では、含有群は非含有群、対照群に比較し、非含有群は対照群に比較し有意に高

い値を示した ($p < 0.01$)。

3. PIXE 法による元素分析において, Na, P, S, Cl, K の含有量の平均値では, 含有群, 非含有群, 対照群の間に有意差は認めなかった。Mg, Ca では, 含有群が非含有群, 対照群と比較しそれぞれ有意に高い値を示した ($p < 0.05$, $p < 0.01$)。
4. マイクロフォーカス X 線 CT 所見では, 含有群, 非含有群ともに移植部に β -TCP の気孔部分が観察されたが, 含有群では, 非含有群に比較して気孔径の小さいものが多く認められ, 良好な移植片の吸収や骨の再生状況が観察された。対照群では, 抜歯窩と思われる像が観察されるが, 周囲は骨皮質に囲まれていた。
5. 組織所見では, 含有群は非含有群に比較し, β -TCP の気孔である腔が少なく, 気孔周囲のハバース層板の形成も多く観察された。また, ハバース層板の発達した骨組織に近い像も多く観察された。対照群において, 抜歯窩は全体的に成熟した骨組織に置換されていた。

IV. 考察及び結論

1. DEXA 法による骨塩定量において, 移植部を含めた関心領域の BMD は, 含有群が非含有群, 対照群に比較し有意に高いことを認めた ($p < 0.01$)。このことから, 含有群は非含有群より新生骨の形成量が多いことが推測された。
2. PIXE 法による元素分析において, Mg と Ca の含有量は, 含有群では非含有群と比較し ($p < 0.05$), また対照群と比較し ($p < 0.01$) 有意に高いことを認めた。新生骨の形成促進に, 骨の主要な構成元素である Ca の取込量の増加が寄与していることが推測された。
3. 軟 X 線写真, マイクロフォーカス X 線 CT 像, 組織像から含有群は β -TCP の残存を認めるが, 非含有群に比較し, 良好な移植片の吸収と骨の再生が観察された。
4. 以上のことより, ビーグル犬下顎骨骨欠損に対する rhBMP-2 の適用が骨再生の促進に有効であることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 関 山 三 郎 (口腔外科学第二講座)
副査 教授 佐 藤 方 信 (口腔病理学講座)
副査 教授 戸 塚 盛 雄 (歯科放射線学講座)

骨形成蛋白質 (BMP) には, 強力な骨形成促進作用を有することが知られている。しかし, BMP と担体の適切な組み合わせに関しては, まだ不明な点がある。そこで本研究は, より純粋な BMP である rhBMP-2 と β -TCP を組み合わせ, ビーグル犬下顎骨骨欠損に対する顎骨の再生について検討を行ったものである。

研究計画は整然と立てられている。骨の再生については, 骨塩定量, 元素分析, X 線学的, 組織学的検索方法を用いて, 多角的な観点から評価を行った。骨塩定量, 元素分析からは, 含有群が非含有群に比較し, 新生骨の形成量が多いことを示した。また, X 線学的, 組織学的検索からは, 含有群が非含有群に比較し, 担体の良好な吸収と骨の再生を観察した。これらの研究成績は骨欠損に対する rhBMP-2 の適用が, 骨再生の促進に有効であることを示したものである。

BMP を用いた骨の再生療法は今後, 臨床応用が期待されるものであり, 本研究から得られた結果は, 重要な基礎的データの一部分となり得るものである。

これらの研究結果に対する考察も的確であり, 学位授与に値するものと認めた。

試験・試問の結果の要旨

本研究の目的と結果の意義, さらに BMP, 骨塩定量, 元素分析, X 線学的, 組織学的検索方法に関連した事項について試問を行ったところ, 適切な解答を得た。よって学位授与に値する十分な学識を有し, 研究指導力を備えているものと認めた。