

氏名 おおはし ゆう 大橋 祐 生
学位の種類 博士 (歯学)
学位授与番号 岩医大院歯博第266号
学位授与の日付 平成23年3月10日
学位論文題目 bFGF 徐放性材料を用いた骨再生モデルにおける骨再生と血管新生の検討

論文内容の要旨

I 研究目的

口腔外科領域では、骨欠損部の補填材料として人工骨や腸骨などの自家骨が用いられている。しかし、人工骨には異物反応性や術後感染などの臨床上改善すべき問題点を含んでおり、自家骨の移植については術中あるいは術後にまで及ぶ患者に対しての負担が懸念される。

近年、骨欠損に対して再生医学的アプローチが求められている。骨再生には足場材料、成長因子、間葉系細胞などの自己細胞の三要素が不可欠である。一方、臨床においては骨再生が行われていく中で、新生血管による血液の供給や循環は、骨の形成や感染防御の面において重要であると考えられる。本研究は、bFGF 徐放システムによる骨再生モデルを用いて、マイクロフォーカス CT により同一個体の経時的な骨再生の経過を観察し、さらに再生骨部の連続組織標本作製することで、骨再生と血管新生の関係を明らかにすることを目的とした。

II 研究方法

10 週齢の Wistar 系ラット 20 匹の頭頂骨に直径 7mm の骨欠損を形成し、実験群には bFGF 10 μ g 含有酸性ゼラチンディスクを埋入した。また、対照群には同ディスクに生理食塩液を含浸させたものを埋入した。

埋入後 2 日、1 週、2 週、4 週に同一ラットをマイクロフォーカス CT (eXplore Locus, GE ヘルスケア バイオサイエンス株式会社) にて撮影し、これにより得られたデータをもとに三次元画像解析ソフト (MicroView Ver. 2.2, GE ヘルスケア バイオサイエンス株式会社) にて立体的に骨再生の経過を観察した。また、埋入後 1 週と 4 週に 4 μ m 厚の連続組織標本を Film-transfer 法にて作製し、H-E 染色を行った。連続組織標本は、冷却 3CCD カメラ装着光学顕微鏡 (E-1000®, Nikon) にて二次元コンピューター画像に入力し、再生骨と新生血管の観察を行った。

III 研究成績

マイクロフォーカス CT 所見は、実験群において埋入後 2 日では再生現象を確認することができなかったが、埋入後 1 週、2 週になると軽度の骨再生が認められ 4 週まで継続していた。マイクロフォーカス CT による骨体積計測の結果、埋入後 2 日、1 週、2 週では実験群と対照群との間に有意差は認められなかったが、4 週には対照群に対し実験群では有意に体積が増加していた ($P < 0.05$)。

組織学的評価の結果、埋入後 1 週において、新生血管は、対照群に対し実験群は有意に多く観察された ($P < 0.05$)。また、埋入後 4 週においても実験群は有意に多くの新生血管が観察された ($P < 0.05$)。

IV 考察及び結論

bFGF による骨再生誘導は、埋入後 1 週から 2 週の時期に行われ、4 週には骨再生が行われていることが示された。また bFGF の徐放によって、埋入後 1 週より多数の新生血管が形成されており、埋入後 4 週においても継続的に栄養供給が十分に行われていることが考えられた。

bFGF の徐放により新生血管の形成が誘導され、その結果、骨再生が誘導されていることが示唆された。本研究で示された骨再生における早期の血管誘導は、感染に対する抵抗性を高め、より確実な骨再生をもたらすものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 杉 山 芳 樹 (口腔外科学講座 歯科口腔外科学分野)
副査 教授 藤 村 朗 (口腔機能構造学講座 口腔解剖学分野)
副査 教授 水 城 春 美 (口腔外科学講座 顎口腔外科学分野)

口腔外科領域では顎骨再建や顎裂部骨移植などの種々の大きさの骨欠損の治療を行っており、この骨欠損に対する再生医学的アプローチが期待されている。再生された組織が生体に生着して、長く留まって機能するためには、再生組織への血行の確保が不可欠である。さらに口腔のように感染の機会が多い部位では、再生組織の生着は如何に細菌感染を生じさせないかが重要である。このためにもできるだけ早期に再生組織への血行を確保する必要がある。

これまで当教室では、骨の小欠損に対して酸性ゼラチンディスクを足場とした bFGF 徐放システムを利用した骨再生モデルを検討してきた。今回大橋は、この酸性ゼラチンディスク bFGF 徐放システムによるラット頭頂骨の骨欠損における骨の再生状態を、新たなマイクロフォーカス CT で同一個体について、ディスク埋入後 2 日、1, 2, 4 週目で観察した。さらに、ディスク埋入後 1 週と 4 週でラットを屠殺して連続組織標本を作製して再生骨と新生血管の観察を行った。

その結果、骨再生については、マイクロフォーカス CT では埋入後 1 週、2 週になると軽度の骨再生が認められ、4 週まで継続していた。再生骨の骨体積計測の結果、埋入後 2 日、1 週では対照群とは有意差がなかったが、2 週、4 週では対照群よりも有意に骨体積が増加していた。これを埋入後 2 日からの体積増加量でみると、4 週目で有意な増加が見られた。さらに組織学的な検索では、埋入 1 週目では骨断端とディスクの間には肉芽の形成を認めた。また、埋入 4 週目では活発な再生骨の形成が観察された。一方、血管新生についてみると、埋入 1 週目で直径 10 μ m 以下の血管新生がみられ、対照群よりも多くの血管新生が見られた。これに比べ、埋入 4 週目では直径 10 μ m 以上の新生血管が多く観察された。新生血管数は埋入 1 週、4 週で対照群に比べ有意に増加していた。また埋入 1 週と 4 週を比較すると、血管数は 1 週の方が有意に多かった。

本研究に用いた酸性ゼラチンディスク bFGF 徐放システムは骨再生における早期の血管誘導は、感染に対する抵抗性を高め、より確実な骨再生をもたらすと思われた。

試験・試問の結果の要旨

最初に本論文の目的、概要について説明がなされた。次いで研究方法、結果ならびにその考察と今後の研究展開について試問した結果、いずれも適切な回答が得られた。また、口腔外科学に関する十分な知識も有し、今後の研究に対しても意欲的で、学位に値する学識と研究能力を備えているものと判定した。