

論文要旨等報告書

氏	坂田 吉郎
授与した学位	博士
専攻分野の名称	歯学
学位授与の番号	博 甲 第 3363 号
学位授与の日付	平成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	医歯学総合研究科機能再生・再建科学専攻(学位規則第4条第1項該当)
学位論文題名	ラット頭蓋骨骨欠損部における骨膜細胞と β -リン酸三カルシウム(β -TCP)の骨形成能への影響について

論文審査委員 教授 菅原 利夫 教授 山本 敏男 助教授 吉田 靖弘

学位論文内容の要旨

口腔外科領域において、口蓋裂といった先天性疾患、顎骨に生じた腫瘍切除後、骨髄炎術後、外傷などにより生じた顎顔面骨の欠損部や骨不足部の再建は重要な課題の一つである。こうした部位を骨組織で再建する症例は多く、自家骨移植が最も予見性の高い手法であるとされている。しかし採取する骨量が制限されること、骨採取のための手術部位が増えることが欠点として考えられる。

人工骨代替材料はこういった問題点を解決できるものであり、さまざまなハイドロキシアパタイト系を代表とする人工骨補填材の研究が活発になされているが、いまだ顎顔面領域において、十分な生体への親和性を持ち効率よく骨を誘導し、伝導する骨補填材が臨床応用されていないのが現実である。近年、移植後に骨に完全に置換するとされる生体吸収性の人工骨 β -リン酸三カルシウム(β -Tricalcium phosphate;以下、 β -TCPとする)が開発され、注目されている。

一方、骨組織再生医療の分野において、生体には骨芽細胞などへ分化する骨形成能を持つ細胞の存在が知られている。Uenoらは骨膜内に骨軟骨形成細胞が存在することをウサギの脛骨骨膜を用いて証明し、骨膜移植後に移植床で活発に増殖し、骨欠損修復を示すことをラット骨欠損モデルで報告している。こうした骨形成能を持つ細胞を β -TCPと複合させ移植することで効率的に骨再生される可能性はあるが、いまだ十分な知見を得ていないのが現状である。

今研究では、 β -TCPと骨形成細胞を豊富に含む脛骨骨膜を、人工的に作製した頭蓋骨骨欠損部に複合移植した。 β -TCPがもたらすとされる有益な効果が脛骨骨膜との併用によって促進されるかどうかを明らかにすることが目的であり、骨形成細胞を含む組織が骨形成に与える効果についてX線学的、組織学的に検討したので報告する。

[実験ならびに方法]

A群は、 β -TCP細粒(オスフェリオンG1,オリンパス社製)50 μ gと採取した骨膜を骨欠損部に複合移植した。B群は β -TCP細粒単独移植群とし、骨欠損部に β -TCP細粒を50 μ g移植した。C群は、骨膜単独移植群とし、採取した骨膜を骨欠損部に移植した。D群は、非移植群とし、骨欠損部へは移植せずにそのまま縫合閉鎖した。

[結果ならび結論]

X線学的所見では移植後10日目にA群、B群では骨欠損部内に移植した β -TCP細粒のX線不透過性の領域が観察され、その周囲に新生骨様石灰化領域は観察されなかった。C群、D群では欠損部内に石灰化領域は見られなかった。また移植後30日目、A群では、欠損部内での石灰化領域が拡大していた。B群では、明らかな石灰化領域の変化は認められなかった。C群では、欠損部の中心に石灰化領域が観察された。D群では明らかな石灰化領域は見られなかった。移植後60日目A群では、欠損部内の石灰化領域はさらに拡大し、ほぼ欠損部全域を占め、欠損範囲は不明瞭となった。B群では明らかな石灰化領域の増加は観察されなかった。C群では、骨欠損部中心に観察された石灰化領域は欠損内部で拡大した。D群では明らかな石灰化領域は観察されなかった。

組織学的観察では移植後 10 日目, A 群の骨欠損部では, β -TCP を取り囲む様に線維性結合組織の骨膜組織が観察された. 骨膜の線維性結合組織内では, 線維芽細胞形態をした骨膜細胞の活発な増殖が観察され, これらは BrdU 陽性を示した. また新生骨は観察されず, β -TCP 周囲には TRAP 陽性破骨細胞が観察された. B 群では, 骨欠損部内で β -TCP 周囲にわずかな線維芽細胞が観察された. BrdU 陽性, TRAP 陽性細胞は観察されなかった. C 群では, 欠損部内に活発な骨膜細胞の増殖が観察された. これらは BrdU 陽性を示したが, TRAP 陽性破骨細胞は観察されなかった. D 群では, 周囲組織からの結合組織の侵入が観察されはじめた. 移植後 30 日目 A 群の骨欠損部には β -TCP を取り囲む様に新生骨の形成が観察された. 新生骨は欠損部中心部と骨断端部から形成され, それぞれ癒合しつつあった. また β -TCP 周囲では活発な骨芽細胞が観察され, 部分的に β -TCP の吸収と新生骨の置換が観察された. β -TCP 周囲の TRAP 陽性破骨細胞の数は減少した. B 群では β -TCP 周囲を線維性結合組織が取り囲む様子が観察された. C 群では欠損部内に新生骨の形成が観察され, その周囲には骨芽細胞が多く見られた. また新生骨周辺に血管新生が観察された. D 群では欠損部は線維性結合組織で満たされた. 移植後 60 日目, A 群では骨欠損部の新生骨は一段と発達し, 骨欠損は, ほぼ新生骨で満たされた. 欠損部内の新生骨は, 骨髄構造に乏しい層状構造を持つ骨組織であり, 多数の骨細胞を認めた. 欠損部内に移植された β -TCP は, 新生骨により置換され, ところどころに β -TCP の残存が見られた. B 群では β -TCP 周囲は線維性結合組織で, ほぼとり囲まれ, 新生骨はほとんど観察されなかった. 欠損部の骨断端からはわずかな新生骨が欠損部中心方向に観察された. C 群では形成された新生骨は, 欠損部内でやや発達したものの欠損部全体を満たすには至らなかった. D 群では, 周囲断端骨から中心に向かってわずかな新生骨が観察されたが, 骨欠損部には新生骨は観察されなかった.

今回の実験では, β -TCP と骨膜を複合移植することで, ラット頭蓋骨の骨欠損部において有効な骨形成量の増加が観察された. 骨形成細胞を用いた骨再生医療では, 細胞の増殖分化の過程を調節する転写因子や, 骨形成蛋白の発現の解明も不可欠とされる. 今後は, 他の骨髄や培養骨形成細胞なども含めて β -TCP の骨形成細胞複合移植における, Runx2/Cbfa1 やオステオポンチンなどの骨形成調節因子の分子生物学的な解明を行い, これらを基にしたより効率的な骨再生手技の検討を行いたい.

論文審査の結果の要旨

近年、人工骨補填材 β -リン酸三カルシウム (β -TCP) は移植後に骨に置換する生体吸収性の生体材料として注目されている。

他方、骨組織再生医療の分野においては、生体には骨芽細胞へ分化する、いわゆる骨形成能を持つ細胞が存在することから、この骨形成能を持つ細胞や組織を β -TCP と複合させ、骨欠損部へ移植することによる効率的な骨再生の可能性が指摘されている。しかしながら、いまだ十分な知見が得られていない。

本研究は、 β -TCP がもつ骨再生に対する有益な効果が潜在的に骨形成能をもつ骨膜との併用によって、促進されるか否かを明らかにすることを目的とし、 β -TCP と骨形成能を豊富に有する脛骨骨膜を人工的に作製したラット頭蓋骨骨欠損部に複合移植した。すなわち、骨形成細胞を含む組織と β -TCP の共存が骨形成に与える効果について検討したものである。

骨膜を移植した群では、欠損部において移植後初期に骨膜細胞の活発な増殖が認められ、経時的にこれらの細胞は骨芽細胞に分化し骨形成がみられるようになった。 β -TCP と脛骨骨膜を複合すると、骨膜単独移植群に比べ明らかな骨形成量の増加が観察され、骨膜移植と β -TCP の複合移植の有効性が示された。

上述の研究結果は、骨組織の再生医学に重要な知見を与えるものである。したがって、本研究論文は博士（歯学）の学位論文に値するものと認められた。