

## 論文要旨等報告書

氏 澤木 聖子  
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 3 8 4 1 号  
学位授与の日付 平成 2 1 年 3 月 2 5 日  
学位授与の要件 医歯薬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モデルにおける骨髄移植、骨膜移植による骨形成の組織学的検討

論文審査委員 教授 長塚 仁 教授 皆木 省吾 准教授 高木 慎

### 学位論文内容の要旨

【緒言】顎顔面領域における外傷や腫瘍等で生じた骨欠損部に対する再建方法として、近年自家骨に代わる人工骨を用いた移植法や、骨形成関連細胞や組織を用いた組織工学的な手法が報告されている。中でも、骨髄と骨膜は骨形成関連細胞を豊富に含んでいるため、特に有効な材料であることが知られており、その骨形成能を示した報告が多くなされている。生体の骨は、膜性骨化により形成される骨と軟骨内骨化により形成される骨とに分かれており、この骨化様式の違いは、生物の無脊椎動物から脊椎動物への進化と大きく関わっていると考えられている。その結果、ヒトにおいては、硬く緻密な構造で内部の器官を保護する役割を担う膜性骨化によって形成される骨と、内面のスポンジ状構造によって身体の支持や運動器、カルシウムなどの貯蔵庫としての役割を担う軟骨内骨化により形成される骨とが存在している。このように生体には、骨化様式の違いにより機能に応じた異なる性質の構造を持つ骨がある。したがって、骨を再建修復する際には、骨の量的不足を補うのみならず、内面の質的修復も考慮されるべきであり、骨の再生医療が普及する中でこうした再生骨の骨質の検証はきわめて重要な課題である。この研究では、ドナーとして採取される組織によって形成される組織に形態学的な相違があるか否かについて、骨形成関連細胞を豊富に含む骨髄と骨膜を用い、ラット頭蓋骨骨欠損モデルを用いて、形成される骨の骨質に着目し、骨形成過程を組織学的に検証した。

【材料と方法】実験動物には7週齢のSprague Dawley系雌性ラット40匹を使用した。全身麻酔下にラット頭頂部に局所麻酔を施した後、切開を加え頭蓋骨骨面を明示し注水下にラウンドバーにて硬膜直上まで達する直径4mmの骨欠損を作製した。骨髄および骨膜はラット右側脛骨からそれぞれ採取した。骨欠損部への移植材料により各群10匹ずつを次のように分類した。A群は骨髄/ $\beta$ -リン酸三カルシウム( $\beta$ -TCP)移植群、B群は骨膜/ $\beta$ -TCP移植群、C群は $\beta$ -TCP単独移植群、D群は非移植群とした。移植後10,30,60日目に試料を摘出し固定後、5%エチレンジアミン四酢酸溶液(EDTA)で約30日間脱灰し、脱水処理後、パラフィン包埋した。6 $\mu$ mの切片を作製し、ヘマトキシレン・エオジン染色を行い、光学顕微鏡にて観察した。

【結果】A群について、移植後10日目では新生骨は観察されず、 $\beta$ -TCP周囲に活発な細胞の増殖が観察された。30日目、欠損部の $\beta$ -TCP周囲に部分的に新生骨の形成を認め、 $\beta$ -TCPの吸収と新生骨への置換の様子も観察された。60日目になると、骨形成はさらに進み、欠損部は新生骨でほぼ満たされており、その構造は骨髄様を有していた。B群について、移植後10日目では新生骨は観察されず、 $\beta$ -TCPを取り囲む線維芽細胞様の細胞が増殖している様子が観察された。30日目、欠損部内に部分的に新生骨の形成が認められ、 $\beta$ -TCPの吸収も観察された。60日目では、 $\beta$ -TCPは大部分が吸収し、欠損部は骨髄様構造に乏しい緻密な層状構造を有する新生骨で満たされていた。C群、D群について、観察期間を通して欠損部に明瞭な新生骨の形成は認められなかった。

【考察】本研究において、ラット頭蓋骨骨欠損部に移植された骨髄および骨膜は、ともに骨形成能を持ち、骨髄からは骨髄様構造を有した海綿骨様の骨が形成されるのに対し、骨膜からは骨髄様構造に乏しい緻密骨様の骨が形成されることが示された。骨膜の骨形成能は古くから検討されており、骨膜の骨芽細胞層が骨折の治癒に関わっていることや、骨膜への機械的な刺激がその骨形成能を高めることなどが報告されている。一方、骨髄には自己複製能および多分化能を有する造血幹細胞、間葉系幹細胞と血管内皮前駆細胞が存在することが知られている。本研究では骨髄を移植した骨欠損部には、骨髄様構造を有した新生骨が形成されることが示された。これには、骨髄に多分化能を有する細胞が複合的に含まれていることが関与しているのではないかと考えられる。また、同じ移植床に対して、骨髄と骨膜という性質の異なる移植材料を用いて移植を行った結果、形成骨に組織学的な相違が観察されたことから、頭蓋骨骨欠損モデルにおいては、形成される骨は移植床の環境ではなく、移植材料に依存した性質を持つ可能性が示唆された。骨再生医療において、生体への侵襲を最小限にした上で、十分な量の骨を効率よく作ることに加え、近年では“骨質”という概念が注目されつつある。得られた骨の骨質が骨再生の成否を左右するとも言われており、われわれ顎顔面領域においても移植部位に適した骨質を持つ骨の再生が今後求められるようになって考えられる。本研究で示されたような移植材料の違いによる形成骨の相違について更なる検討が進めば、欠損部に適合する形態に作製された人工骨と移植材料を組み合わせることにより、移植部位に適した骨質を与えることが可能かもしれない。

## 論文審査結果の要旨

顎顔面領域における骨の再建方法として、骨補填材料の移植や組織工学的な手法が報告されており、中でも骨髄と骨膜は特に有用な組織であることが知られている。一方、生体には膜性骨化および軟骨内骨化により形成される骨が存在し、その構造や性質、機能はそれぞれ異なる。したがって、再建部位に適した骨を再建するためには、再生骨の質も考慮されるべきである。この研究では、骨髄および骨膜をそれぞれ $\beta$ -リン酸三カルシウム( $\beta$ -TCP)を担体としてラット頭蓋骨骨欠損部に移植し、形成骨の組織学的な相違を検証した。結果、以下の結論を得ている。

### 1. 骨髄/ $\beta$ -TCP移植群

移植後10日目では新生骨は観察されなかった。30日目、欠損部に部分的に新生骨の形成を認め、 $\beta$ -TCPの吸収と新生骨への置換の様子も観察された。60日目になると、欠損部は新生骨でほぼ満たされており、新生骨には骨髄様構造が認められた。

### 2. 骨膜/ $\beta$ -TCP移植群

移植後10日目では新生骨は観察されなかった。30日目、部分的に新生骨の形成が認められ、 $\beta$ -TCPの吸収も観察された。60日目では、 $\beta$ -TCPは大部分が吸収され、欠損部は骨髄様構造に乏しい緻密な新生骨で満たされていた。

### 3. $\beta$ -TCP単独移植群および非移植群

観察期間を通して新生骨の形成は認められなかった。

本研究において、ラット頭蓋骨骨欠損部に移植された骨髄および骨膜は、ともに骨形成能を持ち、骨髄からは骨髄様構造を有した海綿骨様の骨が形成されるのに対し、骨膜からは骨髄様構造に乏しい緻密骨様の骨が形成されることが示された。すなわち、頭蓋骨骨欠損モデルにおいて形成される骨は、移植床の環境ではなく移植組織に依存した性質を有する可能性が示唆された。本研究で示された結果は、再生骨に移植部位に適した骨質を与えられる新しい可能性を示唆する重要な知見である。よって、本申請論文は博士(歯学)の学位論文に値すると考えられる。