

学 位 論 文 審 査 の 要 旨

論文提出者	近藤 雄三
論文審査委員	(主 査) 朝日大学歯学部 教授 永原 國央 (副 査) 朝日大学歯学部 教授 近藤 信夫 (副 査) 朝日大学歯学部 教授 永山 元彦
論文題目	炭酸含有アパタイトによる骨芽細胞増殖分化の特性解析
<p><u>論文審査の要旨</u></p> <p>歯科インプラント治療では、骨量の不足した症例に対してしばしばメンブレンを用いたGBR法による骨増生術が施されるが、さらに多くの骨増生を必要とする症例では、骨補填材が適用される。骨増生のための移植材料としては自家骨移植が最も信頼性の高い手法であるが、移植に伴う骨採取には健常部位への手術侵襲が必要なことから、患者の負担は大きく、時には受け入れられない場合もある。このため人工骨補填材料として、骨の無機成分に類似した生体親和性の高いリン酸カルシウム系材料の応用研究が行われている。特に歯科領域では水酸化アパタイト(HA)と、β-リン酸三カルシウム(β-TCP)が臨床応用されているが、これらについては吸収性など生体親和性に関する様々な問題が指摘されている。このような背景から、ヒト骨アパタイトに組成が類似し同等の炭酸を含む、炭酸含有アパタイト(CA)が Doi らによって開発された。700 °Cで焼結した CA は骨と同等の炭酸を含有しており、弱酸性溶液中で骨と同程度の溶解性を示した。また、CA はラット頭蓋骨欠損モデルにおいて骨伝導能を有することが示されているが、その生体親和性や生理活性に関する細胞生物学的な検討は十分になされていない。</p> <p>本研究では、ラット頭蓋冠由来骨芽細胞培養系を用いて、CA が増殖や分化に及ぼす影響を観察して HA やβ-TCP など既存の人工骨補填材との間で比較し、その生理活性を支持するシグナル伝達経路について検討している。さらに、ラット大腿骨骨欠損モデルを用いて、これらの人工骨補填材に対する組織の反応性について比較検討した。</p> <p>結果として、ラット頭蓋冠由来骨芽細胞(rOB)を用いて人工骨補填材上での細胞動態の検討では、CA は rOB の接着と増殖を阻害せず、HA、β-TCP よりも優れた細胞親和性が示された。また、分化誘導においても ALP 活性の上昇および石灰化に CA は促進的に作用し、他の2種の骨補填材よりも rOB の増殖分化促進に優れた材料であることが示された。これらの結果、CA がどのようなメカニズムで rOB への分化誘導に関与するのかを検討するため、MAPK シグナル伝達経路に着目し検討を行った。その結果、CA 上で培養した rOB では p38MAPK のリン酸化が顕著に促進されていたことから、p38MAPK の経路を特異的に阻害して rOB の増殖、接着性および分化について比較検討したところ、CA 上での分化促進能が顕著に低下することが示された。さらにラット大腿骨骨欠損モデルを用いた組織学的検討から、CA および HA を欠損部に填入した群で新生骨の形成が顕著で、蛍光免疫染色の結果において、CA を填入した組織では、新生骨と材料の間にオステリックス、リン酸化 p38 が共に陽性の細胞が多数認められていた。</p>	

MAPK 経路の中でも p38MAPK 経路は、特に骨芽細胞の分化において重要な役割を果たすことや、成長因子などの刺激による分化調節にも関与する経路であることが知られている。本研究で示された CA による rOB の分化促進能は、分化誘導を行わない条件下で発揮されており、HA でも効果は劣るものの CA と同程度の分化促進能が認められた。これらの事実から CA および HA のもつ骨アパタイトに類似するリン酸カルシウム系材料の特性が rOB の分化に関わる経路を賦活したものと考えられた。特に、HA は不純物を含まないリン酸カルシウム結晶であるのに対し、CA は骨アパタイトと同程度の炭酸を含有し、このことが rOB の応答性をより鮮明にしていることが示された。

本研究結果により、人工骨補填材としての CA が骨芽細胞に対する親和性および骨分化誘導能において既存の骨補填材よりも優れていることが示され、CA 単体のみならず細胞移植を併用した骨再生療法においてもその有用性が確認できた。さらにこれらの CA による rOB に対する刺激は p38MAPK を介した反応であることを示すことができたことで、臨床応用への有用性が具体的に示された。

よって審査委員は、本論文を博士（歯学）の学位を授与するに値すると判定した。

