

ふ り が な 氏 名	まつせ かずや 松瀬 和也
学 位 の 種 類	博士（歯学）
学 位 記 番 号	甲 第 814 号
学位授与の日付	平成 30 年 3 月 9 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項に該当
学 位 論 文 題 目	Periodontal regeneration induced by porous alpha-tricalcium phosphate with immobilized basic fibroblast growth factor in a canine model of 2-wall periodontal defects (イヌ下顎骨二壁性骨欠損モデルにおける塩基性線維芽細胞増殖因子を固定化した α -リン酸三カルシウムの歯周組織再生)
学 位 論 文 掲 載 誌	Medical Molecular Morphology
論 文 調 査 委 員	主 査 森田 章介 教授 副 査 今井 弘一 教授 副 査 中嶋 正博 教授

論文内容要旨

塩基性線維芽細胞成長因子（basic Fibroblast Growth Factor, bFGF）は、種々の細胞の増殖作用および血管新生作用をもたらすことが知られている。本研究では、ヘパリンを α -リン酸三カルシウム（ α -TCP）に化学結合させた薬物担持担体と bFGF を用いて、歯周組織の再生促進効果を調べた。

薬物担体は、固相反応性ヘパリン誘導体を α -TCP 多孔質体と反応させ作製した。その後、bFGF とインキュベートすることで、薬物徐放足場への bFGF の固定化を行った。 α -TCP 顆粒の形態と表面組成は走査型電子顕微鏡（SEM）と X 線光電子分光（XPS）によって行った。ビーグル犬 6 匹の下顎小白歯 2 本を抜去し、8 週後に第二小白歯の近心頬側と遠心頬側、第四小白歯の近心頬側に二壁性骨欠損を 6 か所作製した。bFGF 群には α -TCP/ヘパリン/bFGF 複合体、対照群には α -TCP を骨欠損部に填入し閉鎖創とした。術後 2、4、8 週に各 2 匹を安楽死させ、実験部位をマイクロ CT で撮影後、骨のパラメーター解析を行った。EDTA にて中性脱灰し、薄切後に HE 染色、アザン染色、免疫染色による新生組織定量を行った。マイクロ X 線画像解析装置を用いて骨密度（BMD）、骨塩量（BMC）、骨体積率（VD）の計測を行った。HE 染色切片より新生骨率（BA/TA）、新生セメント質率（NC/DH）、新生歯根膜率（PL/DH）を算出した。

SEM 画像では α -TCP 本体は直径約 5~10 μm の連通孔形状をしていた。X 線光電子分光分析においては、ヘパリンに特異的に反応する S2p と有機質に反応する N1s でピークが存在することから、 α -TCP にヘパリンが固定されていることが分かった。骨のパラメーター解析の結果、BMD と VD においては両群に有意な差は認めなかった（ $p > 0.05$ ）。しかし、2 週と 4 週の BMC において、bFGF 群は対照群と比較して有意に高値を示した（ $p < 0.05$ ）。組織学的評価において、2 週の bFGF 群では α -TCP

顆粒は吸収され、 α -TCP 周囲には新生血管が認められた。対照群は α -TCP が原形のまま残留していた。bFGF 群では、新生セメント質と新生歯根膜細胞の出現を認めた。4 週の bFGF 群では α -TCP 顆粒の大半は吸収され、新生骨に置換されていた。対照群では結合組織周囲に残留 α -TCP 顆粒が観察された。8 週の bFGF 群では骨欠損部はハバース管構造を伴った新生骨で満たされていたが、対照群では α -TCP 顆粒の残留を認めた。BA/TA は bFGF 群では 2、4、8 週において、対照群と比較して有意に高かった($p < 0.05$)。NC/DH、PL/DH は bFGF 群では 4 週において、対照群と比較して有意に高値を示した($p < 0.05$)。

以上の結果より、イヌ下顎骨二壁性骨欠損モデルにおいて、bFGF 固定化 α -リン酸三カルシウムは歯周組織再生促進に有用であることが明らかとなった。

論文審査結果要旨

塩基性線維芽細胞成長因子 (basic Fibroblast Growth Factor, bFGF) は、種々の細胞の増殖作用および血管新生作用をもたらすことが知られている。本研究では、ヘパリンを α -リン酸三カルシウム (α -TCP) に化学結合させた薬物担持担体と bFGF を用いて、歯周組織の再生促進効果を調べた。

薬物担体は、固相反応性ヘパリン誘導体を α -TCP 多孔質体と反応させ作製した。その後、bFGF とインキュベートすることで、薬物徐放足場への bFGF の固定化を行った。 α -TCP 顆粒の形態と表面組成は走査型電子顕微鏡 (SEM) と X 線光電子分光 (XPS) によって行った。ビーグル犬 6 匹の下顎小白歯 2 本を抜去し、8 週後に第二小白歯の近心頬側と遠心頬側、第四小白歯の近心頬側に二壁性骨欠損を 6 か所作製した。bFGF 群には α -TCP/ヘパリン/bFGF 複合体、対照群には α -TCP を骨欠損部に填入し閉鎖創とした。術後 2、4、8 週に各 2 匹を安楽死させ、実験部位をマイクロ CT で撮影後、骨のパラメーター解析を行った。EDTA にて中性脱灰し、薄切後に HE 染色、アザン染色、免疫染色による新生組織定量を行った。マイクロ X 線画像解析装置を用いて骨密度 (BMD)、骨塩量 (BMC)、骨体積率 (VD) の計測を行った。HE 染色切片より新生骨率 (BA/TA)、新生セメント質率 (NC/DH)、新生歯根膜率 (PL/DH) を算出した。

骨のパラメーター解析の結果、BMD と VD においては両群に有意な差は認めなかった($p > 0.05$)。しかし、2 週と 4 週の BMC において、bFGF 群は対照群と比較して有意に高値を示した($p < 0.05$)。組織学的評価において、2 週の bFGF 群では、対照群と比較し、 α -TCP 周囲には新生血管が認められた。4 週の bFGF 群では、 α -TCP 顆粒の大半は吸収され、新生骨に置換されていた。また、新生セメント質様構造と新生骨の間に歯根膜様構造を認めた。対照群では結合組織周囲に残留 α -TCP 顆粒が観察された。8 週の bFGF 群では骨欠損部はハバース管構造を伴った新生骨で満たされていたが、対照群では α -TCP 顆粒の残留を認めた。

以上の結果より、bFGF 群は術後 2 週において血管新生、幼若骨形成がみられ、早期の段階で骨再生を認めた。BA/TA は術後 2 週、4 週、8 週において、bFGF group のほうが有意に高値を示した。このことから、2 壁性骨欠損は一般的に骨再生が困難と考えられているが、bFGF/ヘパリン/ α -TCP 複合体の使用は、骨再生を促すことが示唆された。NC/DH、PL/DH は術後 4 週において bFGF group のほうが優位に高値を示した。bFGF/ヘパリン/ α -TCP 複合体の使用は、新生セメント質、新生歯根膜の形成を促進し、2 壁性骨欠損において歯周組織再生に有用であることが示唆された。

以上、イヌ下顎骨 2 壁性骨欠損モデルにおいて、bFGF 固定化 α -リン酸三カルシウムは歯周組織再生促進に有用であることが明らかにした点において、本論文は博士 (歯学) の学位を授与するに値すると判定した。