

ふ り が な 氏 名	ふあん あんちー 黄 安祺
学 位 の 種 類	博士（歯学）
学 位 記 番 号	甲 第 884 号
学位授与の日付	令和 2 年 3 月 6 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	Integration of Epigallocatechin Gallate in Gelatin Sponges Attenuates Matrix Metalloproteinase-Dependent Degradation and Increases Bone Formation （ゼラチンスポンジへのエピガロカテキンガレートの 組み込みはマトリックスプロテアーゼ依存性分解を減弱し 骨形成を増強させる）
学 位 論 文 掲 載 誌	International Journal of Molecular Sciences 第 20 巻 第 23 号 令和元年 11 月
論 文 調 査 委 員	主 査 馬場 俊輔 教授 副 査 田村 功 教授 副 査 沖永 敏則 教授

## 論文内容要旨

歯科治療において、歯周病や外傷に帰因する骨欠損の治療は大きな課題となっている。近年、緑茶に含まれるエピガロカテキンガレート (EGCG) をゼラチンに化学結合させたスポンジ状材料 (EGCG-GS) およびその真空加熱物 (vhEGCG-GS) を開発し、vhEGCG-GS が優良な骨再生能を示す事を報告した。しかし、当材料の生体内分解挙動と骨再生の関係の詳細な解明には至っていない。本研究は、ラット頭蓋臨界骨欠損モデルおよび免疫組織学的評価を用い、当材料の生体内分解挙動と骨再生機序の解明を目的とした。

材料および方法に関して、水中合成法を用いて、豚皮膚由来タイプ A ゼラチンと EGCG から EGCG-GS を作製し、その後 150 度 24 時間真空熱処理を施し vhEGCG-GS を得た。機序解明のためゼラチン単体 (以下 GS)、真空熱処理を施した GS (以下 vhGS) を作製した。材料学的評価には、走査型電子顕微鏡 (SEM) およびフーリエ変換赤外分光光度計 (FTIR) 等を用いた。骨形成能は、8 週齢の SD 系雄性ラットの頭蓋冠にトレフィンバーで直径 9 mm の臨界骨欠損を形成し、試料を埋入しマイクロ CT を用いて評価した (実験群)。対照群は非埋入群とした。観察期間 (1w, 4w) 終了後に頭蓋冠を採取し、活性酸素マーカーである 4-ヒドロキシ-2-ノネナール (4-HNE)、残留ゼラチン、及びゼラチンの分解に関わるマトリックスメタロプロテアーゼ (以下 MMP)-2、-9 を免疫蛍光染色するとともに、染色強度を定量的に評価した。また、*In vitro* で MMP-2、-9 酵素を用いた各材料の分解実験を行った。更に上記材料上での骨芽細胞

株 UMR-106 の細胞増殖を評価した。統計学的評価には、一元配置分散分析と Tukey 法を用いた。埋入 1 週間後、vhGS 埋入群では 4-HNE 及び MMP-2、-9 の染色強度が増強され、ヘマトキシリンエオジン染色画像で白血球の集積が認められた。一方、EGCG を含有する vhEGCG-GS ではこれらの染色強度が下がった。vhGS 上に比べ、vhEGCG-GS 上において有意な細胞接着が認められた。vhEGCG-GS では MMP-2 による分解に対して抵抗性を示していることが認められた。vhEGCG-GS が最も優位な骨形成を示した。活性酸素は MMPs の発現や活性増強に関与していることが報告されている。また、緩やかな担体分解挙動は細胞に足場を提供すること事が知られている。これらの知見を総合的に考慮すると、vhEGCG-GS の優れた骨再生能には、細胞接着効果、抗酸化作用および MMP 分泌制御が関与している可能性が示唆された。

### 論文審査結果要旨

本研究において、申請者が緑茶に含まれるエピガロカテキンガレート (EGCG) をゼラチンに化学結合させたスポンジ状材料 (EGCG-GS) およびその真空加熱物 (vhEGCG-GS) を開発し、ラット頭蓋臨界骨欠損モデルおよび免疫組織学的評価を用い、当材料の生体内分解挙動と骨再生機序の解明を目的とした。

結果に関しましては、埋入 1 週間後、vhGS 埋入群では 4-HNE 及び MMP-2、-9 の染色強度が増強され、ヘマトキシリンエオジン染色画像で白血球の集積が認められた。一方、EGCG を含有する vhEGCG-GS ではこれらの染色強度が下がった。vhGS 上に比べ、vhEGCG-GS 上において有意な細胞接着が認められた。vhEGCG-GS では MMP-2 による分解に対して抵抗性を示していることが認められた。vhEGCG-GS が最も優位な骨形成を示した。活性酸素は MMPs の発現や活性増強に関与していることが報告されている。また、緩やかな担体分解挙動は細胞に足場を提供すること事が知られている。これらの知見を総合的に考慮すると、vhEGCG-GS の優れた骨再生能には、細胞接着効果、抗酸化作用および MMP 分泌制御が関与している可能性が示唆された点において、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。