

ふりがな氏名	つまの のぶひと 妻野 誠仁
学位の種類	博士（歯学）
学位記番号	甲 第 938 号
学位授与の日付	令和 4 年 3 月 4 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	Bone Regeneration by Dedifferentiated Fat Cells Using Composite Sponge of Alfa-Tricalcium Phosphate and Gelatin in a Rat Calvarial Defect Model (ラット頭蓋冠欠損モデルにおける α -リン酸三カルシウムとゼラチンの複合スポンジを用いた脱分化脂肪細胞による骨再生)
学位論文掲載誌	Applied Sciences 第 11 巻 第 24 号 令和 3 年 12 月
論文調査委員	主査 中嶋 正博 教授 副査 井関 富雄 教授 副査 橋本 典也 教授

論文内容要旨

幹細胞を用いた再生医療には、機械的で再吸収可能な足場が必要であり、頭蓋顔面の異常や損傷による難治性の骨欠損を治療するために、多くの需要がある。また、脱分化脂肪細胞 (DFAT) のような多能性の前駆細胞は、再生治療のための有望な供給源である。本研究では、DFAT を含む α -リン酸三カルシウム (α -TCP) とゼラチンスポンジ (GS) の複合ゼラチンスポンジ (α -TCP/GS) が、ラットの頭蓋冠欠損モデルにおいて、in vivo での骨再生を誘導することを明らかにすることを目的とした。

α -TCP/GS は、 α -TCP と 2% の GS を真空加熱法で混合して作製した。 α -TCP /GS の配合割合を決定するために圧縮応力試験を実施した。次に α -TCP/GS と GS の熱重量測定・示差熱分析(TG/DTA)を行った。 α -TCP/GS 作製時に α -TCP がアパタイト化していないかを確認するため、X線回折分析(XRD) 及びフーリエ変換赤外分光法(FTIR)を行った。DFAT を α -TCP/GS に播種(α -TCP/GS+DFAT)し、走査電子顕微鏡(SEM)観察及び DAPI 染色を行い、DFAT が播種されていることを確認した。 α -TCP/GS+DFAT をラット頭蓋冠欠損モデルに移植した。移植 4 週間後に、マイクロコンピュータ断層撮影 (μ -CT) および組織学的解析(Hematoxylin-Eosin 染色、Factor VIII免疫染色)を行った。

α -TCP/GS は、60mg α -TCP 添加群で十分な力学的強度を有し、TG/DTA では、 α -TCP/GS は GS に比較して熱重量の減少は小さかった。XRD の結果、 α -TCP は水と接触してもハイドロキシアパタイトに変化しなかった。また、静電相互作用により安定した α -TCP/GS が形成されていることが、FTIR

により確認された。SEM 観察・DAPI 染色より α -TCP/GS 内に DFAT が存在することを確認した。 μ -CT 分析では α -TCP/GS+DFAT 群の方が α -TCP/GS 群よりも、有意に骨体積率が高かった。また、HE 染色で TCP/GS+DFAT 群の骨形成が高いことが確認された。Factor VIII 免疫染色においても同様に α -TCP/GS+DFAT 群の方で新生血管数が有意に多かった。

本研究より DFAT を含む α -TCP/GS を移植することで、骨の再生と血管の新生が促進され、臨界骨欠損を治癒できる可能性が示された。

論文審査結果要旨

幹細胞を用いた再生医療には、機械的で再吸収可能な足場が必要であり、頭蓋顎顔面の異常や損傷による骨欠損を治療するために、期待されている。脱分化脂肪細胞 (DFAT) は多能性の前駆細胞で、再生治療のための有望な供給源であるとされている。

本研究では、 α -リン酸三カルシウム (α -TCP) とゼラチンスポンジ (GS) に DFAT を浸透させた複合ゼラチンスポンジ (α -TCP/GS) を作成し、ラットの頭蓋冠欠損モデルに移植し、骨再生が誘導されることを目的としている。

その結果、 α -TCP/GS は、60mg α -TCP を添加することにより十分な力学的強度を有し、 α -TCP/GS は GS に比較して熱重量の減少は小さな材料であることが証明された。また、XRD の結果においては、 α -TCP は水と接触しても hidroキシアパタイトに変化なく、静電相互作用により安定した α -TCP/GS が形成されていた。

この材料をラット頭蓋骨欠損部に移植した結果、 μ -CT 分析において α -TCP/GS+DFAT 群が α -TCP/GS 群よりも有意に骨体積率が高く、HE 染色でも TCP/GS+DFAT 群の方が新生骨の形成が多く認められた。さらに、Factor VIII 免疫染色においても α -TCP/GS+DFAT 群で新生血管が多く認められた。

以上のことから、DFAT を含む α -TCP/GS は骨の再生と血管の新生が促進され、臨界骨欠損でも骨再生が期待できることが示された点において、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。