

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、臨界骨欠損を治療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 は水と接触してもハイドロ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。