

## 論文審査の結果の要旨

氏名： 舘 野 敦

博士の専攻分野の名称： 博士（歯学）

論文題名： ラット臨界骨欠損への dedifferentiated fat cells と I 型コラーゲン組換えペプチドの移植効果

審査委員：（主査） 教授 米原啓之

（副査） 教授 浅野正岳 教授 飯沼利光

教授 松村英雄

顎顔面領域の骨欠損は外傷、腫瘍切除あるいは遺伝性疾患などを原因としており、機能的および整容的な問題がある。顎骨欠損の修復には、自家骨移植が多く用いられてきた。しかし、移植片の大量採取が困難なため、広範な顎骨欠損に対してはより有効な方法の検討が必要である。骨修復において最も重要な細胞外マトリックスは骨を構成する I 型コラーゲンだが、分子内に多くの Arg-Gly-Asp (RGD) 配列を有している。この配列は生体内の細胞表面に発現しているインテグリンに結合することが明らかとなっており、骨増生に有効であることが報告されている。本研究では新規開発された recombinant peptide (RCP) という RGD 配列を 1 分子中に 12 個有する新規骨補填材と脂肪組織から分離された脱分化脂肪細胞 (dedifferentiated fat cell: DFAT cell) の併用が骨再生に及ぼす影響について検討した。

DFAT 細胞および脂肪細胞由来幹細胞 (adipose-derived stem cell: ASC) は 10 週齢の F344/Jcl 雄性ラット (200 ± 10 g) から従来より報告されている方法に従って天井培養を用いて分離した。ラット下顎骨欠損部への移植には、RCP ブロック足場と細胞 (DFAT 細胞または ASC) を混合し、複合体を作製した後に行った。骨欠損部は、F344/Jcl 雄性ラットの切歯後方下顎骨下縁をインバーテッドコーンバーを用いて切削することにより作成した。欠損部に各材料を移植した後閉創し、新生骨の形成状況をマイクロ CT 撮影装置 (R\_mCT) および 10% 中性緩衝ホルマリン固定パラフィン切片を用いた H & E 染色標本により組織学的に解析した。4 群の構成は以下のとおりである。

- (1) 対照群：骨欠損を作成し、そのまま縫合した群
- (2) RCP 単独群：RCP ブロック足場のみを移植した群
- (3) ASC / RCP 群：ASC を播種した RCP ブロック足場を移植した群
- (4) DFAT / RCP 群：DFAT 細胞を播種した RCP ブロック足場を移植した群

RCP の DFAT 細胞に対する直接的な効果は、骨芽細胞誘導培地により 400 倍に希釈した RCP を DFAT 細胞に作用させ、通法に従って complementary DNA を作製し、osteocalcin 及び osterix 遺伝子発現の変化について real-time PCR により検討した。

その結果、以下の結論を得た。

1. DFAT 細胞と RCP ブロック足場の併用は、RCP 単独群、ASC / RCP 群と比較して新生骨量は顕著に多かった。
2. DFAT 細胞に対する RCP の作用により、osterix mRNA の発現が増強された。

以上のことから、DFAT / RCP が臨界骨欠損における骨形成に有効であることが示唆された。また、DFAT 細胞が骨再生を目的として利用可能であり、そのための有望な細胞源であることが示唆された。

本研究の内容は、再生医療領域の研究ならびに関連歯科領域分野の発展に寄与することが大であると考えられた。

よって本論文は、博士（歯学）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上

平成 31 年 3 月 12 日