

## 論文審査の結果の要旨

氏名：古 畑 光 昭

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：Real-time assessment of guided bone regeneration in rat critical size mandibular bone defects in rats using collagen membranes with adjunct high and low concentration of fibroblast growth factor-2  
(高濃度または低濃度 fibroblast growth factor-2 添加コラーゲン膜のラット下顎角臨界骨欠損に対する骨再生の経時的変化)

審査委員：(主 査) 教授 川 戸 貴 行

(副 査) 教授 佐 藤 秀 一

教授 武 市 収

教授 米 原 啓 之

歯科インプラント治療では適切な位置にインプラントを埋入するために、骨形態の改善を必要とすることが多い。その際、応用される骨再生誘導 (guided bone regeneration ; GBR) 法は、保護膜 (メンブレン) を使用して欠損部位への軟組織の侵入を防ぎ再生するスペースを確保し、骨形成に関する細胞を選択的に誘導する方法である。メンブレンの主成分として I 型コラーゲンを適用したものは、加工成形しやすく取り扱いに優れ、生体内で吸収されることからメンブレン除去のための二次手術の必要がなく、外科的侵襲が軽減される利点がある。そのためコラーゲンメンブレン (collagen membrane ; CM) をスキャホールドに用い、様々な成長因子と組み合わせた新規骨再生ユニットによる効果的な組織再生を検討した研究も行われている。Fibroblast growth factor (FGF) -2 は、血管形成誘導および骨形成促進作用を有する成長因子であり、骨癒合を増進する能力や骨欠損の治癒促進を示すことが報告されている。このため、歯周病による骨内欠損に対する歯周組織再生材にも応用されている。

そこで、GBR 法を応用した骨造成量の改善や骨成熟に必要な時間を短縮することを目的に CM と FGF-2 を組み合わせた新たな骨再生ユニットを作製し、FGF-2 添加 CM がラット下顎角臨界骨欠損モデルに対する骨造成に及ぼす影響を放射線学および組織学的に評価した。

本研究では、はじめに、CM から FGF-2 が持続的に徐放されるかを *in vitro* で調べた。CM に FGF-2 を 0.5  $\mu\text{g}$  (low ; L) もしくは 2.0  $\mu\text{g}$  (high ; H) 添加した後、PBS に浸漬し、2, 4, 6, 10, 14 日目にそれぞれ上清を回収後、ELISA 法にて FGF-2 のタンパク量を測定した。つぎに、ラット下顎角骨欠損モデルを作製し、FGF-2 添加 CM による骨再生の影響を *in vivo* で調べた。10 週齢の雄性近交系ラット (F344/jcl) 10 頭にイソフルランによる吸入麻酔を行った後、3 種混合麻酔を腹腔内注射し全身麻酔を施し、局所麻酔として 1/80,000 希釈リドカイン 0.5 ml を術部に注射した。下顎骨骨面を露出させ、内径 4.0 mm のトレファインバーを用いて円形の臨界骨欠損を作製した。骨欠損を無作為に振り分け、欠損を被覆しない群 (control 群)、欠損を CM で被覆した群 (CM 群)、欠損を CM で被覆し FGF-2 を 0.5  $\mu\text{g}$  添加 (CM/L-FGF-2 群) または 2.0  $\mu\text{g}$  添加した (CM/H-FGF-2 群) 群に分けた。欠損部施術後、咬筋および皮膚を縫合し、手術日を 0 日とし 6 週まで飼育した。実験動物用 3D マイクロ CT (マイクロ CT) 撮影を行い、新生骨量、骨密度、骨欠損閉鎖率を求めた。さらに骨欠損部を含む周囲組織を切り出し、hematoxylin eosin (HE) 染色、tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) 染色およびオステオカルシン (OCN)、runt-related transcription factor 2 (Runx2) を検出する免疫組織染色を行った。

その結果、以下の知見を得ている。

1. CM からの FGF-2 の徐放量は L, H とともに 6 日目で最大となり、14 日間ではほぼすべての FGF-2 が徐放された。
2. マイクロ CT 像では CM/H-FGF-2 群と CM/L-FGF-2 群で骨欠損部の骨様組織の再生が顕著であり、術後 6 週の CM/H-FGF-2 群の骨欠損部は骨様組織で完全に閉鎖した。
3. 新生骨量、骨密度および骨欠損閉鎖率はすべての群で経時的に増加し、術後 2 週と 6 週では control 群と CM 群に比較して CM/H-FGF-2 群と CM/L-FGF-2 群で有意に増加した。
4. HE 染色像では、CM/H-FGF-2 群と CM/L-FGF-2 群で既存骨と連続した新生骨の再生を認めた。
5. CM 群と control 群に比べて CM/H-FGF-2 群と CM/L-FGF-2 群で、TRAP 陽性の破骨細胞数が有意に少なかった。

6. 免疫組織染色では、CM/H-FGF-2 と CM/L-FGF-2 群で OCN と Runx2 陽性細胞が観察された。

以上、本研究は、FGF-2 を添加した CM がラット下顎角臨界骨欠損における骨造成を促進し、骨再生の速度を早めることを放射線学および組織学的に明らかにし、CM と FGF-2 を応用した骨再生ユニットが新たな GBR 法の一手段となり得る可能性を示したものであり、歯周病学ならびに歯科臨床関連領域に寄与するところが大きいと考えられた。

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

令和4年3月10日