

# Evaluation of carbonate apatite as a bone substitute in rat extraction sockets from the perspective of mesenchymal stem cells

高橋, 良輔

<https://hdl.handle.net/2324/6787534>

---

出版情報 : Kyushu University, 2022, 博士 (歯学) , 課程博士  
バージョン :  
権利関係 :

氏 名 : 高橋 良輔

論 文 名 : Evaluation of carbonate apatite as a bone substitute in rat extraction sockets from the perspective of mesenchymal stem cells

(間葉系幹細胞に着目したラット抜歯窩における炭酸アパタイト製骨補填材の評価)

区 分 : 甲

### 論 文 内 容 の 要 旨

安全かつ低侵襲な骨造成を行うために、骨補填材として様々な人工材料が使用されている。近年、骨の無機成分である炭酸アパタイト (CO<sub>3</sub>Ap) 製骨補填材が開発され、優れた骨形成能や被覆する軟組織の閉鎖促進などが報告されてきたが、そのメカニズムについては未だ十分に明らかにされていない。そこで本研究では、創傷治癒に関与する間葉系幹細胞 (MSC) に着目し、骨補填材料の違いがMSCの細胞挙動や組織内局在に与える影響を解析した。動物実験では6週齢雄性Wistarラット (n=30) の上顎第一および第二臼歯を抜去し、CO<sub>3</sub>Ap、ハイドロキシアパタイト (HAp)、またはβ-リン酸三カルシウム (β-TCP) を填入した。その3、7日後に、上皮間距離の測定 (Ladewig's fibrin染色)、MSCの集積 (免疫蛍光染色:CD90/105) を観察した。填入後7日目においてCO<sub>3</sub>Ap群で有意に上皮間距離の縮小を認めた。また填入後3、7日目においてCO<sub>3</sub>Ap群およびβ-TCP群では抜歯窩周囲へのMSCの集積が有意に促進された。培養実験ではGFP遺伝子導入ラットから単離したMSCをCO<sub>3</sub>Ap、HAp、またはβ-TCPの存在下で培養した。そして細胞形態 (走査型電子顕微鏡像)、増殖能 (細胞数)、骨芽細胞分化 (Alizarin red S染色)、脂肪細胞分化 (Oil red O染色)、成長因子 (EGF、VEGF、IGF-I) 発現能 (ELISA) を評価した。また各溶液中 (蒸留水、150ppm Ca<sup>2+</sup>溶液、MSC培養液) において、骨補填材浸漬によるCa<sup>2+</sup>濃度の変化を評価した。CO<sub>3</sub>Ap群ではHAp群、β-TCP群と比較して多数の細胞突起の伸展を認めた。一方で、β-TCP群では細胞の球状化を認めた。また間接的培養条件下において、CO<sub>3</sub>Ap群とHAp群ではMSCの分化能が低かったが、増殖能での差は認められなかった。一方で、CO<sub>3</sub>Ap群のみIGF-I、VEGFの増加を認めた。またCO<sub>3</sub>Ap浸漬下での溶液中Ca<sup>2+</sup>濃度は150ppm Ca<sup>2+</sup>溶液およびMSC培養液中で有意に減少した。これらの結果より、CO<sub>3</sub>Apを填入した抜歯窩周囲組織へのMSCの集積が有意に促進されたことで上皮組織の閉鎖が促進されたと考えられる。また本培養条件である間接的培養条件下は、CO<sub>3</sub>Apは溶液中のCa<sup>2+</sup>を吸着し、MSCの骨芽細胞への分化を抑制したと考えられる。一方で、CO<sub>3</sub>Ap周囲のMSCは成長因子を放出することで、抜歯窩の創傷治癒や血管新生を間接的に促進したと考えられる。以上よりCO<sub>3</sub>Ap製骨補填材が内在性のMSCを集積させ、MSCが成長因子 (VEGF、IGF-1) を産生することで間接的に硬組織や軟組織の修復に関与している可能性が示唆された。