

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)			
論文調査委員	主 査	九州大学	教授	石川 邦夫
	副 査	九州大学	教授	前田 英史
	副 査	九州大学	教授	和田 尚久

論 文 審 査 の 結 果 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開発されている。近年、骨の無機成分である炭酸アパタイト(CO₃Ap)製骨補填材が開発され、優れた骨形成能や軟組織の治癒促進が報告されてきているが、そのメカニズムについては未だ十分には明らかにされていない。そこで本研究では、創傷治癒に深く関与する間葉系幹細胞(Mesenchymal Stem Cell: MSC)に着目し、骨補填材料の違いが MSC の組織内局在や細胞挙動に与える影響を解析していた。

動物実験では、6 週齢雄性 Wistar ラットの顎第一および第二臼歯を抜去し、抜歯窩に CO₃Ap、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)を填入していた。その 3、7 日後に歯肉の治癒の指標となる上皮断端間距離および免疫蛍光染色による抜歯窩への MSC 集積について検討したところ、填入後 7 日目において CO₃Ap 群における歯肉上皮断端間距離の縮小、さらに CO₃Ap 群およびβ-TCP 群における抜歯窩周囲への MSC の集積が観察されていた。

培養実験ではまず CO₃Ap、HAp またはβ-TCP に MSC を播種して培養し、走査型電子顕微鏡にて細胞形態を観察した。次に、Transwell インサートを用いて細胞と材料を分離して培養し、増殖能、骨芽細胞分化度、脂肪細胞分化度、成長因子(EGF、VEGF、IGF-I)発現能を評価した。細胞形態において、CO₃Ap 群では、HAp 群やβ-TCP 群と比較して多数の MSC が細胞突起を伸展している像が観察されていた。間接的培養条件下においては、CO₃Ap 群と HAp 群では MSC の分化能と増殖能の向上は認められなかったが、CO₃Ap 群でのみ IGF-I、VEGF の発現の増加が認められていた。また、蒸留水、150ppm Ca²⁺水溶液、MSC 培養液に CO₃Ap、HAp、またはβ-TCP を浸漬し、各液体中の Ca²⁺濃度の変化を観察したところ、CO₃Ap 浸漬下における溶液中 Ca²⁺濃度は 150ppm Ca²⁺溶液および MSC 培養液中で減少していたことから、CO₃Ap が溶液中の Ca を吸着し、分化を抑制したと考察していた。

これらの結果より、CO₃Ap 製骨補填材が内在性の MSC を集積させ、MSC が VEGF および 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たことが示唆された。この結果は歯科臨床の発展に大きく寄与すると思われることから、論文調査委員は本研究を博士(歯学)の学位授与に値するものと判断した。