

学位論文内容の要旨

論文提出者	宮川 和也
論文審査委員	(主 査) 朝日大学歯学部 教授 堀田 正人 (副 査) 朝日大学歯学部 教授 竹内 宏 (副 査) 朝日大学歯学部 教授 土井 豊
論文題目	β -tricalcium phosphateによる骨誘導と骨伝導
論文内容の要旨	<p>組織為害性がないTCPを動物に填入すると、その周囲に異所性に生じる骨形成の誘導骨、あるいは骨組織に関連して起こる骨形成の伝導骨が形成されるため、骨修復の代用材、自家骨移植の骨材料、インプラント治療の骨補填材等として注目され、すでに整形外科領域においてヒトにも臨床応用されつつある。しかし、TCPを組織に填入することによって形成されたTCPの周囲の誘導性骨や伝導性骨の形成の本態についてはまだ十分には究明されていない、この点を明確にすることが臨床応用への前提になると考えることができる。</p> <p>本論文では、TCPによる骨形成の本態を探るために、TCPの実験動物への填入による骨形成の様相を形態的に観察し、また骨芽細胞の分化誘導因子のBone morphogenetic protein (BMP), Runt-related transcription factor 2 (Runx), Osterix (OSX) の骨形成時の動態を免疫組織化学的に追及している。</p> <p>材料として300-500μm径の顆粒状で多孔質のTCPを、実験動物としてWister系ラットを用い、次の6群の実験群を設定して行っている。</p> <p>第1群；ラットの頭部皮下にTCP顆粒を填入。 第2群；大腿部皮下にTCP顆粒を填入。 第3群；頭頂骨にトレフィンバーにて径4.3mmの円形の欠損を作成し縫合。 第4群；第3群の欠損部にTCP顆粒を填入。 第5群；大腿骨に歯科用エンジンバーにて2×10×3mmの長方形の欠損を作り縫合。 第6群；第5群の欠損部にTCP顆粒を填入。</p> <p>各群は1, 3, 5日後, 1, 2, 3, 4週後に実験部を採取し、10%中性ホルマリンで2日間固定した。硬組織試料は10%中性EDTAで3週間脱灰し、パラフィン切片としている。そして、HE染色を施して誘導骨や伝導骨の形成過程を検索し、同時に連続切片に1次抗体に抗BMP2//4抗体, 抗Runx2抗体, 抗OSX抗体の3種類の抗体を反応させ、骨形成の経過における発現性を免疫組織化学的手法に検討している。</p>

実験対照の頭頂骨は骨髓腔が狭小で、BMP発現細胞は骨膜細胞と骨髓細胞の一部に見られ、Runx発現細胞はわずかで、OSX発現細胞はBMPと同程度であり、大腿骨はRunx発現細胞が少なく、BMPとOSXは骨膜細胞と骨髓細胞の多くに発現することを観察している。

第1群と第2群の頭部および大腿部の皮下へのTCP填入では骨形成は全くなく、第3群では、骨断端部に骨が形成されたが、欠損中央部は線維化して骨芽細胞は分化せず骨は修復されなく、BMP, Runx, OSX発現細胞はほとんど骨断端部の骨芽細胞にのみ発現されること、第4群では、頭頂骨欠損部の骨断端部付近のTCP顆粒面に、BMPとそれに続くRunx, OSXの発現細胞が分化し、伝導性骨が形成されるが、欠損中央部のTCP表面の細胞はBMPを発現せず、RunxやOSXの発現もなく伝導性骨も形成されないこと、第5群では、1日後に内骨膜の裏装細胞や骨髓細胞から肉芽組織の形成が始まり、3日から5日後頃にはそこに骨芽細胞の分化と類骨の形成が始まり、2週後頃まで新生骨形成が進行し、4週後では新生骨が減少し始め、肉芽組織の中には多数のBMP発現細胞が現れ、3日後頃よりその中にRunx発現細胞が分化し、5日後にはOSX発現細胞も分化すること、第6群では、1日後には、増殖を開始した肉芽組織中のTCP顆粒周囲にBMP発現細胞が配列し、RunxおよびOSX発現細胞が分化し、5日後頃にはTCP顆粒すべてが肉芽組織に囲まれると同時に、顆粒表面の細胞はRunxおよびOSXを発現し、以降2週後まで伝導性骨を形成することをそれぞれ明らかにしている。

以上から、本論文では、TCP顆粒を填入したラットでは、誘導骨形成が生じないが伝導性骨形成が起こり、これにはBMPの発現細胞が必須であること、そしてその発現細胞は骨膜細胞および骨髓細胞の中に前駆細胞あるいは幹細胞として存在し、TCPに付着し、オートクリン的にあるいはパラクリン的にRunxやOSXを発現することを考察している。

そして、TCP填入による骨形成の誘導は、TCPそのものが骨形成能を持っているのではなく、BMP発現細胞から始まる骨芽細胞系の細胞の増殖と分化のための足場になる物質であると結論付けている。