

ふりがな氏名	リペいち 李 佩祺
学位の種類	博士（歯学）
学位記番号	甲 第 785 号
学位授与の日付	平成 28 年 3 月 11 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項に該当
学位論文題目	The Effect of Interferon- γ and Zoledronate Treatment on Alpha-Tricalcium Phosphate/Collagen Sponge-Mediated Bone-Tissue Engineering (α リン酸三カルシウムコラーゲンスポンジを用いた骨再生に対するインターフェロン γ とゾレドロネートの効果)
学位論文掲載誌	International Journal of Molecular Sciences 第 16 巻 第 10 号 平成 27 年 10 月 26 日
論文調査委員	主査 松本 尚之 教授 副査 今井 弘一 教授 副査 竹村 明道 教授

論文内容要旨

自家骨の代替材料として期待される吸収性リン酸カルシウムについては、吸収速度の制御により、骨置換能が高まる可能性が報告されている。一方、免疫ネットワークの調節機能を持つインターフェロン（IFN- γ ）と破骨細胞抑制機能を持つゾレドロネート（Zoledronate）については、骨免疫領域への関与が報告されている。しかしながら、これらの薬剤は吸収性リン酸カルシウムの吸収速度を制御する潜在的な能力を有するものの、その後の骨置換に及ぼす影響については完全には明らかにされていない。本研究では、IFN- γ 、Zoledronate それぞれの局所投与が、人工骨として開発した吸収性リン酸カルシウムである α リン酸三カルシウム（ α -TCP）とコラーゲン（CS）の複合体である α -TCP/CSの骨置換能に及ぼす影響について、ラット頭蓋骨骨欠損モデルを用いて評価した。

α -TCP/CS は、コラーゲン溶液と α -TCPを混合し、凍結乾燥と真空熱架橋により作製した。材料学的評価は、走査型電子顕微鏡（SEM）、エックス線回折（XRD）、フーリエ変換赤外分光（FTIR）を用いて行った。骨置換能評価は、8週齢SD系ラット頭蓋冠に形成した直径9mm、深さ1mmの臨界骨欠損を用いて行った。 α -TCP/CSを移植4週後、術部にIFN- γ 、Zoledronateそれぞれの局所投与を行った。なお、局所投与をせずに α -TCP/CSのみを移植した群を対照群とした。局所投与2、4週後に、マイクロX線CTを用いて骨形態計測（骨体積率・骨密度）を行った。さらに凍結標本作製し、病理組織学的評価および分子生物学的解析を行った。

SEM像より、 α -TCP/CSは多孔体構造を有しており、XRD測定から α -TCP/CS作製後も α -TCPの結晶構造は変化しないことが明らかとなった。また、FTIR測定にてCSの存在を確認した。骨欠損内の骨体積

率と骨密度については、対照群と比較して、IFN- γ 投与群、Zoledronate 投与群では局所投与 4 週後においてそれぞれ有意に高くなった。病理組織学的評価から、対照群では、埋入 6 週後から破骨細胞の活性化、TNF- α の発現の増強が認められ、再生された骨の著しい吸収が認められた。一方、IFN- γ 投与群、Zoledronate 投与群は、それぞれこれらの骨吸収を抑制し、局所投与 4 週後において、骨再生を促進した。

以上の結果から、IFN- γ 、Zoledronate の局所投与では、人工骨移植後の骨吸収抑制・免疫抑制効果を用いて、骨置換能を向上させる有効な手段となる可能性が示唆された。

論文審査結果要旨

炎症反応は、破骨細胞形成の増強を通じて骨吸収を促進し、骨芽細胞の骨形成を抑制することが報告されている。これらの知見は、骨再生において、免疫・炎症のネットワークが重要な役割を果たしていることを示唆している。一方、 α リン酸三カルシウム/コラーゲンスポンジ (α -TCP/CS) は、非臨界骨欠損の修復において優れた骨形成能を示すものの、より大きな臨界骨欠損の修復効果は乏しい。著者らは、 α -TCP/CS の骨再生機序にも免疫炎症反応が強く関与し、これらの反応を制御することで同材料の骨形成能を向上させようとの仮説を立てている。本研究では、免疫・炎症ネットワークの調節機能を有するインターフェロン (IFN) - γ と破骨細胞形成抑制機能を有する Zoledronate を用い、両薬剤の局所投与が α -TCP/CS の骨再生能に及ぼす影響をラット頭蓋骨欠損モデルを用いて評価している。実験手法としては、 α -TCP/CS 埋入 4 週後、IFN- γ および Zoledronate を頭蓋冠骨欠損部位に局所投与した群を実験群、局所投与をせずに α -TCP/CS 移植のみを行った群を対照群としている。骨形成挙動については、局所投与後 4 週 (埋入 8 週後) までの期間において、骨形態計測、病理組織学的評価、分子生物学的解析を用いて評価している。

骨形態計測の結果、骨欠損内の骨体積率と骨密度は、対照群と比較して IFN- γ 投与群、Zoledronate 投与群共に局所投与 4 週後 (埋入 8 週後) にそれぞれ有意な増加が認められている。病理組織学的評価からは、対照群では埋入 6 週後に破骨細胞の活性化と TNF- α の発現の増強が認められ、新生骨の著しい吸収が認められている。一方、IFN- γ 投与群と Zoledronate 投与群では、新生骨の吸収は抑制され、局所投与 4 週後 (埋入 8 週後) において骨再生が促進されることが確認されている。分子生物学的解析の結果、IFN- γ と Zoledronate は、TNF- α と破骨細胞形成に関連する遺伝子の過度な発現を阻害し、骨吸収を抑制している。

以上結果より、IFN- γ 、Zoledronate の局所投与は、 α -TCP/CS の骨形成能を向上させることを明らかにしている。詳細なメカニズム解明には至っていないが、本実験結果は、免疫調節機能を持つ分子を用いることにより骨補填材の骨形成能を効果的に向上させ得る事を示唆している。同手法は簡便であり、他の骨補填材への応用も期待されることから、骨再生医療の発展に広く寄与する知見と考えられ、本論文は博士 (歯学) の学位を授与するに値すると判定した。