

指 導 教 授 氏 名	指 導 役 割
印	
印	
印	

## 学 位 論 文 要 旨

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科

専攻分野 咬合・有床義歯 補綴学分野	身分 大学院生	氏名 山田 知枝
論文題名 BMP-2含有光重合型PDVAで補強したコーラスポンジによる 吸収性骨補填材		
<p><b>【緒言】</b> 骨欠損が生じた場合の骨補填材として自家骨が用いられてきたが、自家骨の採取には外科的侵襲や採取量の限界があることから、人工骨補填材の開発と骨形成因子との併用が研究されている。アジピン酸ジビニル(DVA)の重合体(PDVA)はエステル結合に基づいた架橋構造であり、生体内のエステラーゼにより加水分解される。加熱重合型PDVAは生分解性を有し、骨補填材として有用であることが確認されている。BMP-2は骨誘導能を有する蛋白であり、臨床応用に向けて有用な担体の開発が進められているが、高温処理によって生物学的活性が低下する。本研究の目的は、熱処理を必要としないBMP-2含有光重合型PDVAで表層を補強したコーラゲンスポンジの吸収性骨補填材としての有用性および骨形成因子BMP-2の担体としての可能性を評価することである。</p> <p><b>【材料ならびに方法】</b> DVAには光増感剤としてカンファーキノン(CQ)1.2w/v%, 重合促進剤として第3級アミンである4-(ジメチルアミノ)安息香酸エチル(EDMAB)4.8w/v%を添加した。直径8mmのコーラゲンスポンジを厚さ2mmにトリミングして、D群にはDVA, DB群にはrhBMP-2(10μg/30μLDVA)含有DVAを表面にコーティングし、DVA/コーラゲンスポンジ質量比13/2とすることで気孔率70%として、嫌気条件下で180秒間光重合させた。対照群はコーラゲンスポンジとした。 D群試料の細胞毒性試験にはMC3T3-E1細胞を用い、陽性対照をコーラゲンスポンジ、陰性対象をアクリル板として細胞に24時間曝露させた。MTS assayを用いて試料曝露のない細胞の生存率を100%として各試料の細胞生存率を測定した。骨石灰化試験はPDVAブロック体上でMC3T3-E1細胞を用いて骨分化誘導させ、アリザリンレッド染色を行った。3点曲げ試験ではコーラゲンスポンジを2×2×25mmにトリミングして、DVA/コーラゲンスポンジ質量比13/2となるようDVAでコーティングした後、嫌気条件下で180秒間光重合させた。対照群はトリミングしたコーラゲンスポンジとした。支点間距離20mm, クロスヘッドスピード0.5mm/minの条件下において最大曲げ応力を計測した。動物埋入試験にはD群, DB群および対照群試料を用いた。動物は8週齢Wistar系雄性ラット45匹を15匹ずつの3群に分け、麻酔下で各群の試料を頭蓋骨上正中に位置付けて骨膜と皮膚を縫合した。術後、1, 2および4ヶ月後に各群5匹ずつに対して灌流固定を施し、頭蓋骨ごと試料を採取し、病理組織学的観察ならびにと骨形態計測を行って骨量(BV/TV)%を算出した。統計学的解析は分散分析の後Tukey法による多重比較, あるいはt検定を行い、有意水準は5%とした。本実験は岡山大学動物実験委員会の承認を得て行った(OKU- 2017021)。</p> <p><b>【結果と考察】</b> 細胞生存率はアクリル板では有意に低値を示したが、D群では有意差を認めず、低毒性であることが示された。アリザリンレッド染色ではPDVAブロック体試料表面は赤く染色され、石灰化物の沈着が認められた。これらの結果から、PDVA細胞毒性は低く生体内で骨芽細胞が接着し骨再生の足場となる可能性があることが示唆された。3点曲げ試験ではD群は対照群と比較して有意に高値を示し、コーラゲンスポンジの物性改善が認められた。また、動物埋入試験においてD群およびDB群試料は4ヶ月後においても骨膜下で試料の形態を保っていたことから、本研究試料は骨再生</p>		

の足場としての強度を有することが示された。動物埋入試験において対照群では新生骨の形成は認められなかったが、D 群、DB 群では全観察期間において部分的に既存骨表面から試料内部への新生骨の形成が認められ、細胞増殖が可能なサイズの連通孔構造を有することが示された。骨量(BV/TV)%はD 群、DB 群ともに1ヶ月後と比較して2ヶ月後および4ヶ月後において有意に高値を示した。D 群では2ヶ月後までは新生骨量は増加したが、その後はほぼ同程度であった。一方、DB 群の新生骨量は観察期間を通して増加した。D 群とDB 群の新生骨量を比較すると、1ヶ月後および2ヶ月後には有意差を認めなかったが、4ヶ月後にはDB 群ではD 群より有意に高値を示した。このことから、DB 群試料は動物埋入後にPDVAが徐々に生体内で分解され、それに伴い徐放されたBMP-2が生物学的活性を示して骨形成を持続したと考えられた。

#### 【結論】

本研究試料のBMP-2含有光重合型PDVAで表層を補強したコーラゲンスポンジは、生体適合性と骨伝導性およびBMP-2徐放による骨誘導性を示したことから、骨補填材ならびにBMP-2担体として有用である可能性が示唆された。