

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 崔 成眞

種々の疾患に起因する大きな骨欠損に対し、骨移植の代替法として hydroxyapatite や tricalcium phosphate(TCP)などのリン酸カルシウム系人工骨が用いられている。最近、著者らのグループは CT データをもとに α -TCP 粉末からインクジェットプリンターを用いて積層造形し、欠損部と同様の形状を有するテーラーメイド人工骨を開発した。しかし、その作用は骨伝導能のみであり、さらに早期に欠損部を安定化させるため、骨誘導能も持つ人工骨の開発が望まれていた。本研究では、このテーラーメイド人工骨に 塩基性線維芽細胞成長因子(bFGF)を結合させ、その臨床的有用性を総合的に評価した。

リン酸カルシウム系人工骨と bFGF が結合するとリン酸カルシウムの強力な吸着能のため、bFGF が放出されない可能性が示唆されている。そこで、第 1 章では、細胞膜ないし組織の保護作用を有する天然二糖類トレハロースに着目し、これを人工骨へコーティングした時の bFGF の放出量について *in vitro* で検討した。同時にその時の人工骨の強度や構造の変化についても検討した。その結果、bFGF 結合トレハロース非処理人工骨を加えた培養液では骨芽細胞の増殖は対照群と同様であったのに対し、トレハロース処理をした bFGF 結合人工骨を加えた培養液では、骨芽細胞の増殖が有意に高まった。さらに、生理食塩水への浸漬によって本人工骨の強度は低下したが、トレハロース処理人工骨は水分に浸漬していない人工骨と同様の力学的強度が保持され、走査電顕でも結晶構造の変化はなかった。

第 2 章では、直径 11mm の犬の頭蓋骨欠損モデルを用い、トレハロースコーティング、非コーティングの人工骨に bFGF を結合させ、その骨増殖効果について検討した。人工骨には 2 つの連通孔を形成し、0~200 μ g 濃度の bFGF を結合させた。人工骨移植後 1 ヶ月間、臨床症状、CT 所見を観察した。1 ヶ月後に安楽死した犬から人工骨および周囲の骨組織を採材し、マイクロ CT および組織学的に骨形成を評価した。その結果、bFGF 100 および 200 μ g 結合人工骨移植部の新生骨量は有意に増加した。骨新生量はトレハロースコーティングの有無による差がみられなかった。

第 3 章では、第 2 章の結果をもとに、犬の頭蓋骨に直径 20mm の大型骨欠損部を作成し、本人工骨による治療効果を 1 年間にわたって検討した。また、人工骨の内部には骨形成を促すため、直径 2mm の 6 個の連通孔を設けた。すべての人工骨をトレハロースコーティング処理し、bFGF 非結合人工骨(TI 群)と 200 μ g bFGF を結合させた人工骨(fTI 群)の骨形成能を比較した。移植後には CT 上の骨形成を評価するとともに、2、6、12 ヶ月の各時点でそれぞれテトラサイクリン、カルセイン、アリザリン・コンプレクソンによる

蛍光染色を行った。12ヵ月後に安楽死し、組織を採取してマイクロCT、蛍光染色および組織学的評価を行った。さらに、骨欠損部の3点曲げ強度試験を行った。

CT上fTI群では連通孔での骨形成がTI群より多く認められた。12ヵ月後の組織所見から、新生骨量はTI群よりfTI群で有意に増加していた。蛍光染色の結果、これらの新生骨はほとんど移植後1-2ヵ月の間に形成されたことが確認され、この時期に人工骨より放出されたbFGFが効果を示したことが推測された。3点曲げ強度試験では両群間に強度の差は認められなかったことから、人工骨自体は骨欠損部の強度に寄与しないことが示唆された。これらの結果から、犬の大きな頭蓋骨の骨欠損部に対するbFGF結合テラーメイド人工骨の臨床的有用性が示された。

第4章では、長骨などの荷重部への本人工骨の応用可能性について、犬の橈骨欠損モデルを用いて検討した。犬の両側橈骨中央部に長さ20mmの欠損部を作製し、同一形状のbFGF非結合人工骨(TI群)と100 μ g bFGF結合人工骨(fTI群)を移植した。その結果、移植後4週目にfTI群では骨欠損部に仮骨が形成され、人工骨は橈骨と癒合していた。しかし、TI群では1例を除いて橈骨に癒合しておらず、2例では人工骨の破損が認められた。また、組織学的には統計的な有意差はなかったが、fTI群ではTI群より新生骨の量が多かった。以上の結果から、長骨に対する本人工骨の強度は十分ではないが、適切量のbFGFを結合させて早期の骨形成を誘導し、骨欠損部の安定化が得られれば、長骨などの荷重部にも十分応用可能であることが示唆された。

以上要するに、本論文は α -TCP粉末から作製したテラーメイド人工骨に骨誘導作用を有するbFGFを結合させた、いわゆる第2世代人工骨が、複雑な形状の大きな骨欠損部に対し、早期に骨形成を誘導し、人工骨の安定化を生じさせるきわめて有力なインプラントであることを証明したものであり、学術上、臨床応用上その貢献するところは少なくない。よって審査委員一同は本論文が博士(獣医学)の学位論文として価値あるものと認めた。