




学位論文審査の要旨

受理番号	第 369 号	氏名	角田 隆太
審査委員氏名	主査	伊東 博司	
	副査	加藤 靖正	
		高田 訓	
			印
			印

論文題名	Concentrated Growth Factorsが骨代謝能に及ぼす影響
------	--

論文審査の要旨(1,500字程度)

研究目的、研究方法、研究結果、考察・結論を簡潔に記述し、これらに対する審査の経過と結果を簡潔、明瞭に記載してください。

研究目的

ラット下顎骨の欠損部へConcentrated Growth Factors (CGF) 移植による組織変化およびCGFが骨芽細胞の機能に及ぼす影響について検討した。

研究方法

CGFは、全身麻酔下にラットより心尖部から採血を行い、室温で遠心分離 (890g×13分) して作製した。In vivoでは、ラットのオトガイ孔の上部へ直径2mmになるように移植床を形成し、そこにCGFを移植した。CGF移植後4日、7日目に試料を摘出し固定、脱灰後、通法に従いパラフィン切片を作製し、H-E染色、TRAP染色を行い光学顕微鏡にて組織学的観察を行った。In vitroでは、MC3T3-E1細胞を培養し、作製したCGFを0.2g/wellで加え培養後に経時的にサンプリングを行った。mRNAを抽出しRT-qPCRで各遺伝子発現を測定した。また、タンパクの検索・解析にウエスタンブロットを行い、また、ALP活性を測定しアリザリンレッド-S染色により石灰化の状況を検討した。

研究結果

In vivoにおいて、移植後7日目では移植群は非移植群と比較して移植床全体に骨形成を認め、移植床は骨組織で満たされていた。また、TRAP染色では、移植後4日目で移植群のTRAP陽性細胞数は、非移植群と比較して明らかに少なくなっていた。In vitroでは、培養16日間でCGFによる石灰化に対する影響は認められなかった。しかし、RANKLのデコイ受容体であるOPG遺伝子の発現が、CGF刺激によって持続的に有意な増加を示し、この遺伝子発現増加に一致して、MC3T3-E1細胞培養上清中のOPGのタンパク質の増加を認めた。

**考察・結論**

本研究ではCGF刺激によるサイトカインの変化はなく、CGF内の濃縮血小板が含有しているサイトカインがプロテアーゼにより分解されることを考慮すると、CGFが1週間以上徐放性に骨再生を促進するとは考えづらい。しかし、CGFはOPGに対しては遺伝子のみならずタンパク質レベルでも有意に上昇させた。この結果を反映するようにTRAP染色では移植後4日でCGF移植群は非移植群と比較しTRAP陽性細胞数が少なくなっていた。本研究は、ラット下顎骨欠損部にCGF移植を行うことで欠損部のOPG合成促進し骨形成が促されることを明らかにした。この結果は、骨の再生過程においてCGFが、OPG合成増加により破骨細胞の分化や活性化、生存を負に調節することで、欠損部の骨再生を促進することを示唆している。

本論文に関する一次審査は、平成29年12月26日午後1時から行われた。審査委員は事前に、同年12月20日に配布された論文を読み、学位論文としての学術的な価値について詳しい検討を行った上で審査に臨んだ。審査ではまず、申請者から研究内容についての説明がなされ、次いで審査委員による論文内容の検討と口頭試問が行われた。主な質疑内容は、7日目に骨増加を促進した理由について、*In vivo*の方法における欠損モデルの詳細について、ならびに形態学的な結果と分子生物学的な結果の信憑性についてであった。試問に対して申請者からは、論文に記載された内容と整合性のある的確な回答を得ることができた。また、審査員会は本文および図の一部に追加、修正を求め、後日、適切に加筆修正されたことを確認した。

本論文は、CGFが骨再生に与える影響として新たな知見を示したものであり、今後の骨再生治療に寄与するものと判断できる。したがって、一次審査委員会は提出された論文が学位論文としての学術的価値を持つものであり、申請者に博士(歯学)の学位を授与できるものと判定した。