

最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 号	学位申請者	今藤 隆智	
審査委員	主査	後藤 哲哉	学位 博士(医学・歯学・学術)	
	副査	南 弘之	副査 嶋 香織	
	副査	齋藤 充	副査 犬童 寛子	
<p>主査および副査の5名は、令和3年5月14日、学位申請者 今藤 隆智 君に面接し、学位申請論文の内容について説明を求めると共に、関連事項について試問を行った。具体的には、以下のような質疑応答がなされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。</p> <p>質問1) 骨欠損を被覆するACSに含侵させたrhBMP-9の濃度は血中のBMP-9の濃度と比較してどうか。</p> <p>(回答) 1骨欠損当たりのrhBMP-9投与量が1.0 μgとなるように生理食塩水にて166.67 μg/mlに濃度を調整しACSに含浸させている。その為、成人の血中濃度(2-12 ng/ml)と比べると高いと考えられる。</p> <p>質問2) BMP-2は副作用が報告されているが、今回投与したrhBMP-9の濃度で副作用が出ると考えられるか。</p> <p>(回答) 臨床応用されているBMP-2の濃度は1.5mg/mlである。それに比べて今回使用したrhBMP-9の濃度は166.67 μg/mlと低いので副作用は起こりにくいと考えられる。実際に本研究において異常所見は見られなかった。</p> <p>質問3) 欠損部に新生された骨量をマイクロCTでどのように計測したのか。</p> <p>(回答) 欠損部と同じ直径の円柱状のROIを作成し、先行研究で用いられていたCT値を閾値として用い計測した。</p> <p>質問4) LIPUS照射は毎日麻酔下で行われているが、頻回に麻酔することによる影響はなかったのか。</p> <p>(回答) 明らかな体重の急激な増大・減少や、せん妄症様行動等の行動の変化は認められなかった。</p> <p>質問5) BMP-2とBMP-9を併用したら、それぞれ単独に用いる場合に比べ骨形成が増強する可能性はあるか。</p> <p>(回答) BMP-2とBMP-9では結合するレセプターが異なるため、単独使用よりも併用する方が骨形成をより増強する可能性はあると考える。</p> <p>質問6) BMP-9を歯科領域で応用するとしたらどのような使い方が考えられるか。</p> <p>(回答) ACS等の担体を用いて歯槽骨欠損部位への埋植や顎骨欠損部位への移植等の使用法が考えられる。</p> <p>質問7) 本研究では頭頂骨を用いて実験しているが、顎骨で行うことは可能か。行えるとしたら、歯槽骨でも同様の結果が得られるか。</p> <p>(回答) 歯槽骨の形態は頭頂骨よりも複雑ではあるが、ACSの様に操作性の良い単体を使うことで同様の実験を行うことは可能であると考えている。骨化の様式は両者とも膜性骨化ではあるが、歯槽骨では口腔内細菌叢の影響も考えられ、同様の結果は得られないかもしれない。</p> <p>質問8) 骨新生に対するrhBMP-9単独の効果を解析する必要があるのではないか。そのためにACSを用いずにrhBMP-9を適用することは考えられないのか。</p> <p>(回答) 成長因子等の供給には一定期間の保持や徐放性が不可欠であるため、担体であるACSを用いずにrhBMP-9を適用することは難しい。</p> <p>質問9) 各個体の4欠損に対し3つの実験条件を割り振っているが、得られた結果に個体差の影響はないのか。</p> <p>(回答) 各個体に同じ条件が割り振られた2つの欠損が含まれることになり、群間での個体差や欠損位置による影響は完全に否定できないが、今回はその影響を最小限に留めるため、各欠損への実験条件の割り当てはランダムではなくローテーションとした。</p>				

最終試験の結果の要旨

質問 10) BMP-9 は間葉系幹細胞の骨分化を促進するとのことだが、そのような組織学的所見は認められたか。

(回答) 骨分化の程度を定量化していないため促進されたかどうかは不明であり、組織学的に詳細な解析も行っていない。今後の課題としたい。

質問 11) 血管新生を示す組織学的所見はあったか。

(回答) 血管新生は骨再生の初期の段階から評価することが重要である。今回は経時的なサンプルを作製していないので不明である。今後の課題としたい。

質問 12) 骨のリモデリングのスピードにも LIPUS は影響するか?

(回答) 骨芽細胞数の増加や破骨細胞数の増加にも関与しているとの報告もあるので、骨のリモデリングのスピードを上昇させている可能性はある。

質問 13) LIPUS は骨欠損が生じた直後から照射した方が良いのか。それとも時間を空ける方が良いのか。

(回答) 臨床でも直後から照射している例が多い。時間を空けて照射した研究は確認できなかった。

質問 14) ACS そのものが骨形成の妨げになっていないか。

(回答) ACS が吸収され始める前までの初期の骨基質の蓄積には影響が出ている可能性も考えられる。

質問 15) LIPUS の照射条件はどのように決めたのか。

(回答) 先行研究によると、周波数は、高くなるにつれて軟組織での吸収率が上がり、1MHz 以下ではキャビテーションが起こる確率が高くなることから 1.5MHz とした。出力は、50 mW で温度変化が 1°C 以下であることと、1.5 ~ 45 mW の範囲では修復骨のねじり強度が 30 mW で最大となることから 30 mW とした。1 回当たりの照射時間は、10~40 分の範囲で骨の癒合が 20 分で最大となることから 20 分とした。

質問 16) rhBMP-9 と LIPUS の効果は相乗的か、相加的か。

(回答) 仮説であるが、rhBMP-9 のシグナル経路に LIPUS が正の影響を及ぼし相乗的な効果が得られると考えている。

質問 17) 他の材料に比べ rhBMP-9 が優れている点は何か。

(回答) エムドゲインは動物製剤であり適応症も限られている。リグロスも癌の既往がある患者には禁忌となっており、骨形態によって適応症例が限られる。rhBMP-2 は臨床効果を得るために mg/ml 単位の濃度が必要となり、副作用やコスト面での影響がある。BMP-9 は、BMP-2 と比ベアンタゴニストである Noggin や BMP-3 の影響を受けにくくことから比較的低用量での投与が可能となり、副作用やコストを低減できる可能性がある。

質問 18) rhBMP-9 を用いた骨欠損修復法を研究する意義は何か。

(回答) BMP-9 は高い骨誘導能を持つとされている BMP-2 よりも低い濃度で、BMP-2 と同等かそれ以上の骨誘導能を持つことが明らかとなっている。適応症例については臨床研究を経なければ定められないが、BMP-2 より副作用が少なくコストが低い優れた材料になる可能性は十分にある。

質問 19) LIPUS 照射 ACS 単独使用群と LIPUS 非照射 rhBMP-9/ACS 投与群の間に、新生骨骨基質の性状の違いはあるか。

(回答) rhBMP-9 は骨芽細胞・破骨細胞の分化を誘導し、骨形成を促進するので、rhBMP-9/ACS 投与群の新生骨骨基質の性状は既存骨に近いと思われる。一方、LIPUS は骨芽細胞・破骨細胞などに作用するのに加え、酵素反応による生理的コラーゲン架橋の生成を促進し、糖化や酸化反応による非生理的コラーゲン架橋の生成には影響を与えないことが過去に報告されていることから、LIPUS 照射群の骨基質はより物理的強度が高いと考えられる。

質問 20) rhBMP-9 は局所投与した ACS 内でどの程度の期間活性を維持していられるのか。

(回答) rhBMP-9 の活性持続期間についてのデータはない。BMP-9 の投与量や担体の最適化の為にも今後検討したい。

以上の結果から、5 名の審査委員は申請者が大学院博士課程修了者としての学力・識見を有しているものと認め、博士（歯学）の学位を与えるに足る資格を有するものと認定した。