

## 最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 359 号	学位申請者	篠原 敬哉
審査委員	主査	菊地 聖史	学位 博士 (医学・ <span style="border: 1px solid black;">歯学</span> ・学術)
	副査	西村 正宏	副査 後藤 哲哉
	副査	田松 裕一	副査 町頭 三保
<p>主査および副査の5名は、平成28年2月10日、学位申請者篠原敬哉君に面接し、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) BMP-9は生理的状態で血中に存在するか？  (回答) 2-12 ng/ml 濃度で血清中に存在する。</p> <p>質問2) rhBMP-9の投与量1 µg/siteはどのように決定したか？  (回答) 0-20 µg/site 投与量のBMP-2を用いた報告 (Pelaez et al. J Clin Periodontol. 2014) を基に決定した。</p> <p>質問3) 頭蓋骨欠損のサイズはどのように決定したか？  (回答) 頭蓋骨頂部では様々な骨欠損幅のモデルを用いた報告があるが、本研究では、当教室でモデルとして確立している5 mm 径に決定した。(Shirakata Y et al. J Mater Sci Mater Med. 2014, Taniyama K et al. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2013)</p> <p>質問4) 本研究の目的はrhBMP-9の骨形成能評価であるが、担体評価の位置づけは？  (回答) 成長因子等の供給には担体が不可欠であるが、rhBMP-9に適した担体は不明であるため、rhBMP-9の骨形成能評価前に担体評価が必要であった。</p> <p>質問5) 5処置群の移植の割り振りはどのようにしたか？  (回答) 処置群の割り振りは無作為で決定した。</p> <p>質問6) ラットの個体差による治癒能力についてはどう考えているか？  (回答) 本研究で使用した9週齢のWistar系ラットは、成長期の週齢であるため自己治癒能力が高く、その分個体差も大きいと考えている。</p> <p>質問7) rhBMP-9/ACS群が下の方に骨形成が認められたのはなぜか？  (回答) 脳硬膜に骨原性があるという報告 (Levi B et al. Stem Cells. 2011) があり、rhBMP-9が脳硬膜に存在する様々な細胞に作用した可能性が考えられる。</p> <p>質問8) 本研究では、様々な担体の中でなぜコラーゲンとキトサンを選択したのか？  (回答) コラーゲンに関してはBMP-2を用いた骨欠損モデルの報告が多数あり、キトサンに関してはBMP-9とキトサンゲルを用いた異所性骨形成の報告 (Bergeron E et al. Tissue Eng Part A. 2012) があったため、最初の評価対象として選択した。</p> <p>質問9) 各担体からのrhBMP-9の徐放性は確認したか？  (回答) 徐放性に関しては、確認していないが、今後行う必要があると考えている。</p> <p>質問10) 本研究の頭蓋骨欠損作製時の切開はどのようにしたか？  (回答) Shirakata Yらの方法 (Shirakata Y et al. J Mater Sci Mater Med. 2014) に従い、切開は2段階にて行い、正中で上皮の切開後、骨膜の切開を行った。</p>			

## 最終試験の結果の要旨

質問 11) 新生骨面積率に関して、ChiS 群と rhBMP-9/ChiS 群は同等だが、どのように考えているか？

(回答) ChiS 自身の骨形成促進作用 (Jo et al. *J. Biomed. Mater. Res.* 2013) が機能したことと、ChiS が早期吸収したことによって rhBMP-9 の担体としては十分機能しなかったためだと考えている。

質問 12) BMP-9 の生体内での役割は？

(回答) 血管内皮細胞に作用し、血管新生の調節や糖・鉄代謝の調節に関与しているという報告がある。(Song JJ et al. *Endocrinology.* 1995)

質問 13) BMP-2 の欠点として高濃度が必要であるが、本研究の BMP-9 濃度と違いはあるか？

(回答) ヒトにおいて BMP-2 は mg 単位が必要である。基礎実験においては BMP-2 を用いた同様の系の報告と比較し、本研究の rhBMP-9 の濃度は同程度であるが、ラットの週齢、担体の種類等の条件が異なるため、同一条件下で、BMP-2 と比較するべきであると考えている。

質問 14) 欠損幅が約 5 mm だが、1 欠損部位から 1 枚の切片をとっているのか？

(回答) 1 欠損部位から 50~100 枚の切片をとり、中央部の連続する 3 切片の平均を 1 部位のデータとした。

質問 15) rhBMP-9 が 8 週間も効果があるとは思えないが、どのように考えるか？

(回答) rhBMP-9 が 8 週間存在していたとは考えにくいですが、8 週後の最終結果として rhBMP-9 の効果が得られている。これは、2~4 週の初期段階で周囲組織から様々な細胞を遊走させ、骨形成を促進させた可能性が考えられる。しかし、その点に関しては、2 週、4 週の観察期間での評価が必要であると考えている。

質問 16) 本研究では、キトサンよりコラーゲンの方が良好な結果が得られているが、担体の吸収速度以外の要因は？

(回答) rhBMP-9 の吸着性、徐放性も要因になると考えられる。

質問 17) 同じコラーゲンでも、吸収速度や形状を変えることは可能か？

(回答) 同じ成分のコラーゲンでも架橋構造、由来等が異なるものが存在するので、吸収速度や形状を変えることは可能だと考える。

質問 18) BMP の種類によって最適な担体は異なるのか？

(回答) BMP の種類によって石灰化のメカニズムなど性質に違いがあるので、最適な担体も異なるのではないかと考えている。

質問 19) 臨床応用において、BMP-9 の濃度を考慮すると生体安全性に問題はないか？

(回答) bFGF のヒト歯周組織治験において血中濃度は上昇しないという報告 (Kitamura M et al. *PLoS One.* 2008) がある。よって、BMP-9 の歯周組織における臨床応用の場合でも全身の血中濃度にあまり影響しないのではないかと考える。

質問 20) 本研究のような実験系で、HE 染色に基づく組織形態計測評価以外に評価方法はないのか？

(回答) 免疫染色などの様々な染色法に加え、 $\mu$ CT を用いた三次元的形態観察および骨量の測定がある。

質問 21) BMP-9 は高価だが、臨床応用につなげられるのか？

(回答) rhBMP-9 は試薬としては高価である。本研究で rhBMP-9 の至適濃度および BMP-2 との至適濃度の違いは確認できていないが、これまでの BMP-9 の報告で BMP-2 と異なる性質が認められているため、石灰化のメカニズムも異なることが予想され、結果的にヒトにおいて低濃度での効果が得られることが確認できれば、臨床応用につながると考えている。

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。