

# 論文審査の要旨および担当者

愛知学院大学

報告番号	① 乙 第 号	論文提出者名	鳥居 亮太
論文審査 委員氏名	主査  副査	前田 初彦  田中 貴信  河合 達志	
論文題名	チタン上で培養した非肥満型2型糖尿病ラット 骨髄由来骨芽細胞様細胞の増殖、分化に関する 研究		

インターネットの利用による公表用

(論文審査の要旨)

No. ....1.....

(2000字以内のこと)

愛知学院大学

歯科医療における欠損補綴の選択肢としてのインプラント治療は、インプラント体への骨—インプラント結合が効率的に獲得できるようになり、術式や手技が確立されて適応症例の拡大や糖尿病等の困難な症例での良好な予後が求められている。一般的に、糖尿病患者ではインプラント治療が困難であると言われており、本実験はチタン上における骨髄由来骨芽細胞様細胞の増殖、分化に及ぼす糖尿病の影響を検索する目的で、日本人に多い非肥満型2型糖尿病の疾患モデルである Goto-Kakizaki (GK) ラットを使用してチタンの表面性状が GK ラット骨髄由来骨芽細胞様細胞に及ぼす影響について分析を行い、糖尿病患者へのインプラント治療の可能性について病理生化学的に検討したものである。

実験試料として、GK ラット (糖尿病群) および Wistar/ST ラット (対照群) の大腿骨骨髄由来骨芽細胞様細胞を使用し、これらを低グルコースの分化誘導培地で培養し、機械研磨と酸処理 (硫酸処理、フッ化水素酸処理) を施したチタンディスク上に  $1 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup> の濃度で播種し、それぞれ所定の日数が経過した時点で以下の実験を行っている。実験は、ラット屠殺前における血糖値の測定、培養 1、3 日目における細胞数の計測、培養 3、7、14 日目における Alkaline Phosphatase (ALP) 染色陽性率の分析、培養 14、21、28 日目における von Kossa 染色陽性率の分析、培養 21、28 日目における走査電子顕微鏡 (SEM) による石灰化結節の観察、培養 1、3、7、14、21 日目における Real-time PCR による 6 種の骨芽細胞分化マーカー

一遺伝子 (ALP、Collagen I、Osteopontin、Osteocalcin、Runx2、Osterix) の発現量の解析を行っている。

これらの実験の結果、以下の所見を得ている。

1. 屠殺前のラットの血糖値の平均値は、糖尿病群は対照群に比べて有意に高かった。
2. 細胞数は、糖尿病群、対照群ともに機械研磨では酸処理よりも有意に多かった。
3. ALP 染色陽性率および、Real-time PCR で検索したすべての骨芽細胞分化マーカー遺伝子の発現量は、機械研磨の培養 14 日目で糖尿病群は対照群よりも有意に高かったが、酸処理では低かった。
4. von Kossa 染色陽性率および SEM による石灰化結節数は、機械研磨の培養 28 日目で糖尿病群は対照群と同等の von Kossa 染色陽性率と石灰化結節数を認めたが、酸処理では糖尿病群は対照群よりも von Kossa 染色陽性率が有意に低く、石灰化結節数が少なかった。

以上の結果から、本実験では細胞培養に低グルコースの培養液を使用したことにより、糖尿病による骨芽細胞の分化抑制の影響が弱くなり、培養 14 日目の糖尿病群における機械研磨の ALP 染色陽性率および骨芽細胞分化マーカー遺伝子の発現は対照群より高くなったと推測している。また、機械研磨での石灰化能が培養 28 日目に対照群とほぼ同等になったのは、分化後期に Runx2 が示す骨芽細胞分化抑制作用によるものと考えている。一方、

すべての実験期間で糖尿病群における酸処理の骨芽細胞様細胞の増殖能、分化能が機械研磨よりも低かったことに関しては、糖尿病群ではチタンの表面性状の違いによって増殖能および分化能が変化するものと考察している。

本実験では、*in vitro*にて異なる表面処理を施したチタン上において糖尿病ラット骨髄由来骨芽細胞様細胞を培養して増殖、分化を検索した結果、機械研磨では糖尿病群においても低グルコース培養液中で培養を行うことにより、対照群と同等の石灰化を起こすことを示唆している。したがって、糖尿病患者では、血糖値のコントロールとインプラント体の表面処理方法の選択や埋入後の治癒期間を長くすることにより、インプラント治療の良好な予後が期待できると推察している。また今後は、*in vivo*において糖尿病がインプラント周囲の骨形成に及ぼす影響や適したチタンインプラント表面の処理方法について検証を行う必要があるとしている。

以上のことから本論文では、GKラット骨髄由来骨芽細胞様細胞は、チタンの表面処理方法の選択や低グルコースの培養液を使用することによって増殖、分化を向上させることが可能であったと結論づけている。

本研究は、糖尿病患者へのインプラント治療の適応の可能性を提供するものであり、口腔病理学、歯科理工学、歯科補綴学および関連諸学科に寄与するところが大きい。よって本論文は博士（歯学）の学位授与に値するものと判定した。