

学位授与番号：乙 3263 号

氏 名：野本 秀材

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付： 令和 1 年 9 月 11 日

学位論文名：

Bio-artificial bone formation model with a radial-flow bioreactor for implant therapy—comparison between two cell culture carriers: porous hydroxyapatite and  $\beta$ -tricalcium phosphate beads.

(インプラント治療のためのラジアルフロー型バイオリアクターを用いたバイオ人工骨の開発— ハイドロキシアパタイトと  $\beta$ -リン酸三カルシウムビーズの細胞培養担体間の比較)

学位論文審査委員長：教授 岡部正隆

学位論文審査委員：教授 岩楯公晴 教授 林勝彦

# 論文要旨

氏 名	野本 秀材	指導教授名	吉田 清嗣
<p>主論文</p> <p>Bio-artificial bone formation model with a radial-flow bioreactor for implant therapy—comparison between two cell culture carriers: porous hydroxyapatite and <math>\beta</math>-tricalcium phosphate beads</p> <p>(インプラント治療のためのラジアルフロー型バイオリアクターを用いたバイオ人工骨の開発—ハイドロキシアパタイトと <math>\beta</math>-リン酸三カルシウムビーズの細胞培養担体間の比較)</p> <p>Hideki Nomoto, Haruka Maehashi, Miisako Shirai, Mariko Nakamura, Takahiro Masaki, Yoshihiro Mezaki, Jonghyuk Park, Mamoru Aizawa, Kiyoshi Ohkawa, Kiyotsugu Yoshida, Tomokazu Matsuura</p> <p>Human Cell 2019; 32: 1-11</p> <p>要旨</p> <p>【背景および目的】</p> <p>顎骨欠損患者では、インプラント治療の前に骨移植が必要である。現在、自家骨移植は患者にとって大きな負担である。しかしながら、骨充填剤単独でインプラントのための十分な基礎を形成することは不可能である。本研究では、臨床用骨補填材を多孔質担体として充填したバイオリアクターで未分化骨芽細胞を3次元培養し、骨芽細胞への分化促進、バイオ人工骨開発の可能性について検討した。</p> <p>【材料および方法】</p> <p>本研究では、マウス MC3T3-E1 前骨芽細胞およびヒト胚由来骨芽細胞系 hFOB 1.19 を <math>\beta</math>-リン酸三カルシウム (<math>\beta</math>-TCP) またはハイドロキシアパタイト (HA) の多孔質担体を充填したラジアルフローバイオリアクター (RFB) 中で3次元還流培養し、バイオ人工骨の作製を試みた。</p> <p>【結果】</p> <p>最初の 10～12 日間増殖培養液中で還流培養を行ったところ、グルコース消費は、<math>\beta</math>-TCP 担体培養と比較して、HA 担体培養において増加した。hFOB 1.19 細胞において特に顕著であった。培養期間の後半の間に分化培養液中で培養した場合、グルコース消費は、HA 担体培養において減少した。DNA マイクロアレイ分析は、骨形成が HA 担体を充填した3次元培養において、急速に進行した。一方、<math>\beta</math>-TCP 担体培養では、そして骨芽細胞への分化は不十分であったが、緩徐には分化していることが示唆された。</p> <p>【結論】</p> <p>本研究から、骨欠損部補填材を充填したリアクターで未分化骨芽細胞を3次元還流培養することで、顎骨欠損部補填用バイオ人工骨組織の形成ができる可能性が示された。臨床的に有用な骨補填材である <math>\beta</math>-TCP や HA は、骨芽細胞の培養担体として3次元還流培養で用いると、骨リモデリングを生体外で再現できる可能性もある。</p>			

## 学位論文審査結果の要旨

野本氏の学位申請論文は、主論文1編参考論文1編よりなり、主論文は「Bioartificial bone formation model with a radial-flow bioreactor for implant therapy –comparison between two cell culture carriers: porous hydroxyapatite and  $\beta$ -tricalcium phosphate beads-」という題名の英文論文で、大川清教授、吉田清嗣教授、松浦知和教授の指導のもとに作成され、2019年にHuman Cell誌（IF=2.333）に発表された。テーシスの日本語での題名は「インプラント治療のためのラジアルフロー型バイオリアクターを用いたバイオ人工骨の開発 -ハイドロキシアパタイトと $\beta$ -リン酸カルシウムビーズの細胞培養担体間の比較-」である。以下、審査委員会の審査結果を報告する。

去る令和元年8月30日、岩楯公晴教授、林勝彦教授のご臨席のもと、公開学位審査会を開催し、野本氏による研究概要の発表に続いて、口頭試験を行った。席上、

- ・ 現在一般に使われている骨補填材の問題点はどこにあるのか？
- ・ 歯科分野以外におけるバイオ人工骨形成の試みの動向は？
- ・ 部分骨の形成に成功したとする根拠はどの点であるか。
- ・ ラジアルフロー型リアクターと通常培養との効果の差はどこにあるのか？
- ・ 培養液の流れは細胞にどのような影響を与えるのか？
- ・ 使用した補填材の気孔の大きさはどのくらいか？
- ・ osteopontinとostocalcinの発現から骨芽細胞の分化を評価できるのか？
- ・ C13標識グルコースの代謝の計測によって細胞数や細胞増殖を評価できるのか根拠は？
- ・ 走査型電子顕微鏡で細胞腫を同定できたか？
- ・ チタンが骨芽細胞と親和性が高い理由はどのように考えられているのか？

など多くの質問があったが、野本氏はいずれの質問に対しても、主論文に記載しなかった観察結果や過去の研究を引用しながら回答した。

その後、岩楯公晴教授、林勝彦教授と慎重に審議した結果、本研究は、in vitroにおける骨細胞の誘導と人工骨産生法の確立に大きく寄与するものとして、学位申請論文として十分価値あるものと認めた次第である。尚、テーシスの中に修正すべき点があり、修正を指示した。8月31日に修正されたものが提出され、修正を確認したことを申し添える。