京都大学	博士 (医学)	氏 名	田村 佳代
論文題目	The effect of nicotine and smoking on osteoinduction by recombinant human bone morphogenetic protein-2 (遺伝子組み換えヒト骨形成因子(rhBMP-2)による骨誘導過程におけるニコチン・喫煙の影響)		
(論文内容の要旨)			
<p>喫煙は、がん、循環器疾患(心臓病、脳卒中)、呼吸器疾患(肺気腫、喘息)などの多くの病気の要因であることはよく知られている。タバコには約 4000 種類の化学物質が含まれ、そのうち 200 種類以上はニコチンなどの有害物質とされている。</p> <p>歯科分野において近年の歯科インプラント治療の普及に伴い、喫煙者への歯科インプラント埋入および歯槽骨再生の機会が年々増加している。日常臨床においては禁煙を推奨しているものの、喫煙の影響について未だ不明なことが多い。本研究では、遺伝子組換え型ヒト骨形成因子(rhBMP-2)による骨誘導検定系を用い、ニコチンと喫煙の骨形成への影響について検討した。</p> <p>I.ニコチンの影響について</p> <p>本研究では、タバコに含まれるニコチンの骨形成への影響について検討した。</p> <p><i>in vitro</i> では、rhBMP-2 がマウス筋芽細胞株 C2C12 細胞の成熟筋細胞への分化を抑制し、骨芽細胞への分化を誘導する過程に、ニコチンを投与して検討した。この過程でのニコチンによる細胞毒性と明らかな骨分化への影響は認められなかった。</p> <p><i>in vivo</i> では、骨形成におけるニコチンの影響を検討するため、rhBMP-2 による骨誘導検定系を用い検討した。5μg の rhBMP-2 を 1ml のコラーゲン溶液(3mg/ml)と混和し、凍結乾燥した。これを、直径 4.0mm、厚さ 1.5mm の円板状に成形し、10 週齢雄性 Wistar 系ラットの右側下腿部腓腹筋内に埋入した。同時にニコチン溶液を浸透圧ミニポンプにて低・中・高濃度で投与(0.1, 1.0, 10.0mg/kg/day)し、骨形成について検索した。その結果、生化学的所見ではニコチン濃度が中・高濃度群においてアルカリフォスファターゼ活性とカルシウム含有量が減少していた。また、ヘマトキシリン-エオジン染色とフォンコッサ染色によりニコチン高濃度群では明らかに骨形成が抑制され、免疫組織染色においても新生骨周囲の血管新生が抑制されていた。しかし、有意差がみられたニコチン濃度は喫煙者でも一時的にしか達しえない血中濃度であり、ニコチンが骨形成に直接与える影響は少ないと考えられた。</p> <p>そこで、次に喫煙が骨形成に与える影響について検討した。</p> <p>II.喫煙の影響について</p> <p>本研究では、骨形成における喫煙の影響を検討するため、喫煙装置を用いて、たばこ(ニコチン 2.4mg)を 30 本/回(20 分間)、1 日 1 回を受動喫煙させ、<i>in vivo</i> でのニコチン投与研究と同様の骨誘導検定系を用い検討した。その結果、生化学的・組織学的所見では喫煙群では明らかに骨形成が抑制されていた。また、rhBMP-2 埋入 7 日後から喫煙群では血管新生の抑制を認め、局所血流量測定でも喫煙による一過性の血流減少を認めた。</p> <p>本研究より、喫煙による血管新生の抑制および血管の収縮が血流量を</p>			

減少させ、骨形成を抑制している可能性が示唆された。

以上より、ニコチンの高濃度持続投与による骨形成への影響に増して、間歇的な喫煙による血管新生の抑制および末梢血管の収縮が局所の血流量を減少させ、局所的な骨形成を抑制している可能性が示唆された。

(論文審査の結果の要旨)

申請者は骨形成過程におけるニコチン・喫煙の影響について、骨形成因子による骨誘導実験系を用い検討した。

in vitro において BMP-2 によるマウス筋芽細胞株 C2C12 細胞の骨芽細胞への分化誘導過程では、ニコチンの影響は認められなかった。また、*in vivo* においてニコチンの影響を検討するため、BMP-2 による骨誘導検定系を用い検討した。5 μ g BMP-2 をラットの腓腹筋内に埋入し、同時に、ニコチン(0.1, 1.0, 10.0mg/kg/day)を腹腔内に持続投与した。その結果、ニコチンが骨形成を抑制した濃度は、ヘビースモーカーでも達しえないほどの高濃度(10.0mg/kg/day)であり、ニコチンの骨形成に直接与える影響は少ないと考えられた。さらに、より臨床に近い環境での実験として、喫煙装置を用いてラットに 1 日 1 回喫煙させ(30 本/回)、*in vivo* でのニコチン投与研究と同様の骨誘導検定系を用いて検討した。その結果、喫煙者が達する可能性のあるニコチン濃度の喫煙において骨形成が抑制されることが示された。本研究で得られた「ニコチンは骨形成過程への影響は少ない」が「喫煙は骨形成を抑制する」という結果により、喫煙によるニコチン以外の様々な有害物質が骨形成を抑制する可能性が示唆された。

以上の研究は、禁煙指導が骨形成の面からも有用であることを示しており、さらに、今後は禁煙期間などについて検討することで患者指導に役立てることが期待できる。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 26 年 5 月 28 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日 年 月 日