

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	秋 山 典 宏
論文題目	Difference between Dogs and Rats with regard to Osteoclast-like Cells in Calcium-deficient Hydroxyapatite-Induced Osteoinduction (カルシウム欠損ハイドロキシアパタイト誘発性骨誘導における破骨細胞様細胞の犬およびラット間での差違)		
(論文内容の要旨)			
序論			
ある種の多孔性生体材料は筋肉内など骨外組織においても材料内部に骨組織を形成することが知られており、この現象は材料誘発性骨誘導と呼ばれている。材料誘発性骨誘導のメカニズムは解明されていないが、至適材料埋入後に蓄積される内因性 BMP が骨新生を導くという説や、材料表面に着く破骨細胞様多核細胞が骨芽細胞による骨新生を導くという説などがある。材料誘発性骨誘導は、犬や豚などの比較的大型の動物では起こりやすく、齧歯類などの小型動物では起こりにくいと報告されており、この現象の興味深い点の一つである。このような材料誘発性骨誘導の生物種による差違を研究することは、そのメカニズムの解明につながるだけでなく、優れた骨補填材開発へ寄与することが期待される。そこで本研究では、すでにビーグル犬背筋内における材料誘発性骨誘導が確認されている多孔性のカルシウム欠損ハイドロキシアパタイト(CDHA)を、犬、ラット背筋内に埋入し、特に多核巨細胞の動向に注目して、組織学的、生化学的な比較実験を行った。			
材料と方法			
シリンダー状のCDHA(φ 4×4mm²、Ca/P比 1.61、平均気孔径 300 μ m、気孔率 70~78%)を作成し、犬とラットの背筋内に 1~6 週間埋入した。各週毎に取り出したCDHAから組織切片を作り、ヘマトキシリンエオジン(HE)染色、酒石酸耐性酸フォスファターゼ(TRAP)染色、透過型電子顕微鏡(TEM)観察を行った。またHE染色組織切片での材料の残存率の比較も行った。更にCDHA内の組織からRNAを取り出し、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応(RT-PCR)による骨芽細胞と破骨細胞に特異的なマーカー遺伝子発現の評価も行った。			
結果			
犬の背筋から取り出した CDHA では、埋入後 2 週以後で多数の TRAP 陽性多核細胞を認め、4 週以後では CDHA 内に新生骨形成が確認できた。その反面、ラットの背筋から取り出した CDHA では、埋入後 6 週間の経過中、材料表面に多核巨細胞を多く認めたが、TRAP 染色陽性となるものはわずかで、新生骨形成も認めなかった。多核巨細胞の TEM 観察では、犬背筋から取り出した CDHA では波状縁に似た構造を有した破骨細胞様多核細胞を確認できたが、ラット背筋から取り出した CDHA 内の多核細胞には破骨細胞特有の構造は全く認めなかった。材料の残存率は 2 週目以後でラットから取り出した CDHA が犬と比較して有意に高く、犬背筋内での CDHA の吸収がより高いことが判った。RT-PCR による評価では、破骨細胞に特有のカテプシン K の発現がラットよりも犬背筋から取り出した CDHA で顕著に高かった。			
考察			
CDHA 誘発性骨誘導における犬、ラット間での比較を行った本研究により、骨			

誘導を認める犬においてのみ、埋入後比較的早期から TRAP 陽性の破骨細胞様細胞の出現を認めることが明らかになった。骨組織の形成前に出現する破骨細胞様多核巨細胞が材料誘発性骨誘導に重要な役割を果たしている可能性が示された。ラット材料表面に出現する多核巨細胞は破骨細胞様の特徴を持たず、骨誘導も認めなかったことは、生体材料に対する生体反応の動物種による大きな違いであり、生体材料研究における動物実験結果の解釈に注意を促すものである。さらなる研究によって材料誘発性骨誘導の機序を明らかにすることは、優れた骨補填材の開発に役立つだけでなく、生体材料に対する生物学的反応の制御機構の解明に寄与するものと考えられる。 (論文審査の結果の要旨) 生体材料の中には細胞や蛋白の付加なしに骨外組織内でも骨を誘導することができるものがある。この性質（材料誘発性骨誘導）は、材料の人工骨への応用に際し優れた特性となる。そのメカニズムは十分には解明されていないが、材料誘発性骨誘導は、犬など比較的大型の動物で起こりやすく、げっ歯類など小形動物では起こりにくいといった動物種による差が認められている。また、近年、骨誘導における材料表面の破骨細胞様多核細胞の役割が注目されている。そこで、材料誘発性骨誘導が確認されている多孔性のカルシウム欠損ハイドロキシアパタイト(CDHA)を犬とラット背筋内に埋入し、多核巨細胞に注目した比較実験を行った。犬背筋内に埋入した CDHA 内には、埋入後早期に TRAP 陽性多核細胞を認め、後に骨形成が確認できた。しかしラットでは、同細胞の出現は少なく骨形成も認めなかった。TEM 観察では、波状縁構造を有した破骨細胞様多核細胞を犬のみで確認でき、ラットよりも犬背筋内での CDHA の吸収性が高かった。RT-PCR では、埋入 CDHA 内での破骨細胞特有のカテプシン K の発現が、ラットよりも犬で顕著に高かった。これらの結果、破骨細胞様細胞が材料誘発性骨誘導に重要な役割をしている可能性が高く、動物種による材料誘発性骨誘導の違いに影響していることが示唆された。 以上の研究は材料誘発性骨誘導のメカニズム解明に寄与するところが多い。 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 23 年 2 月 8 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 以降