

氏名	福居希
(ふりがな)	(ふくい のぞむ)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第 号
学位審査年月日	平成29年1月11日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題名	Evaluation of angiogenesis during bone regeneration following leukocyte and platelet-rich fibrin (L-PRF) and artificial bone insertion prior to implant placement (歯科インプラント埋入のための骨造成術におけるL-PRFによる血管新生の評価)
論文審査委員	(主) 教授 河田了 教授 上田晃一 教授 根尾昌志

### 学位論文内容の要旨

#### 《目的》

Leucocyte and platelet-rich fibrin (以下: L-PRF) は創傷治癒や骨新生を促進する自己血由来の生体材料として注目されている。L-PRF には platelet-derived growth factor (PDGF)、transforming growth factor-beta1 (TGF-beta-1)、insulin-like growth factor (IGF)、vascular endothelial growth factor (VEGF) などの成長因子が高濃度に含まれており、なかでも VEGF は L-PRF を用いた骨関連手術などで血管新生に重要な役割を果たすとされているが、ヒト手術組織で検討した報告は極めて少ない。本研究ではヒトの歯槽骨および上顎骨を用いて、L-PRF の血管新生に及ぼす影響を検討したので報告する。

## 《材料と方法》

材料： 観察組織は基礎疾患を有しない 15 人の成人歯科インプラント治療患者から採取した（男性 7 人、女性 8 人、平均年齢 66.2 歳）。

方法： L-PRF は、肘正中皮静脈から血液を 10ml 採血し遠心分離機を使用して、2700rpm、12 分間の遠心分離を行い作製した。骨欠損部に人工骨と自家骨と混和して骨造成術（歯槽骨保存術または上顎洞底挙上術）に使用した。手術から 6 か月後に骨サンプルを採取し、以下の 4 つの群に分けて観察を行った。

- 1) L-PRF 使用＋人工骨を用いた歯槽骨保存術 (n=3)
- 2) 人工骨のみを用いた歯槽骨保存術 (n=5)
- 3) L-PRF 使用＋人工骨/自家骨を用いた上顎洞底挙上術 (n=7)
- 4) 人工骨/自家骨のみを用いた上顎洞底挙上術 (n=6)

採取した骨サンプルから脱灰標本を作成し、Hematoxylin and Eosin (HE) 染色と血管内皮細胞マーカーCD31 抗体 (M0823 culture supernatant, Dako Cytomation) を用いた免疫染色を行い、光学顕微鏡で観察を行った。観察領域における CD31 陽性細胞からなる血管数を各群で比較し統計学的に検証した。(Mann-Whitney 検定、 $P < 0.05$ )

## 《結果》

全群において良好な骨が観察された。L-PRF 使用群、非使用群ともに人工骨周囲の骨髓様組織には、破骨細胞様の多核細胞、線維芽細胞様細胞、血管が観察された。CD31 陽性細胞からなる血管数を、L-PRF 使用群、非使用群で比較検討したところ、上顎洞底挙上術症例において L-PRF 使用群の方が有意に CD31 陽性細胞の血管数が多かった ( $P < 0.05$ )。

## 《考察》

今回の研究では、L-PRF 使用群において多くの血管新生が観察された。骨の再生には、足場と細胞と成長因子の三要素が不可欠と言われている。特に血管新生は、骨形成の足場として働く人工骨や自家骨に血液や栄養を供給することにより骨形成関連細胞を誘導し骨

新生を促すと考えられている。そのため顎骨への骨造成術において血液供給は必要不可欠である。臨床的に L-PRF を用いた歯槽骨保存術や上顎洞底挙上術における良好な骨修復や、動物実験での L-PRF 使用による血管新生、骨新生の促進は複数の文献によって報告されている。しかしながら、ヒトの歯槽骨や上顎骨において、L-PRF の血管新生に及ぼす影響に関して組織学的に検討した報告はない。

本研究では、顎骨造成術における L-PRF の血管新生の効果を、上顎洞底挙上術症例において証明されたことはたいへん興味深い。上顎洞底挙上術は、周囲を骨壁で囲まれた抜歯窩骨修復とは異なり、周囲からの血管形成が生じにくく骨形成や骨リモデリングに適した環境ではないため、上顎洞底挙上術では移植された骨の生着や骨形成の過程で、いかに多くの血管をその場に誘導するかが成功の鍵となる。造成骨の血管新生が L-PRF 使用によって促進されたことは、再生医療における L-PRF の有用性の根拠となるものと考えられる。今後は更に症例数を増やし、L-PRF の骨造成への血管新生の効果を詳細に検証していきたい。

## 論文審査結果の要旨

歯槽骨保存術や上顎洞底挙上術は歯科インプラント埋入部位に既存骨が不足している場合に行われている一般的な骨造成術である。この術式をより確実に低侵襲にするために新規人工骨の開発、幹細胞や成長因子を応用した再生医療が試行されている。申請者らは、成長因子を豊富に含む患者自己血由来の濃厚血小板血漿から成る Leucocyte and platelet-rich fibrin (以下: L-PRF) を骨造成術に応用し、造成骨から採取した組織を、組織学的・免疫組織学的に観察し、L-PRF が骨造成過程で血管新生に大きな影響を与えることを明らかにした。

患者由来の血液から作製される Platelet-rich plasma (以下: PRP) や、L-PRF は、形成外科、整形外科、口腔外科領域で臨床応用されはじめており、その組織治癒促進効果は広く知られている。その理由として PRP や L-PRF に豊富に含まれる成長因子が、組織治癒に効果的に働くことがあげられ、動物実験などで報告されている。その一方で、ヒト組織において PRP や L-PRF を使用群と非使用群の組織学的検証を行った報告はきわめて少ない。

申請者は、L-PRF に豊富に含まれる VEGF のもたらす血管新生効果に着目し、骨造成術を行った部位から採取したヒト組織を、免疫組織学的手法を用いて観察し、上顎洞底挙上術において血管新生が L-PRF 使用により促進されることを発見している。上顎洞底挙上術における骨造成術の成否には、骨形成関連細胞や栄養を供給する血管の存在はきわめて重要である。L-PRF 使用によって血管新生が促進されることを科学的に証明したことは意義深い研究結果であり、L-PRF などの自己血由来生体材料を用いた再生医療の臨床使用の根拠となるものである。

以上により、本論文は本学大学院学則第 11 条第 1 項に定めるところの博士 (医学) の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)