

|              |   |
|--------------|---|
| Title        | Capillary Vessel Network Integration by Inserting a Vascular Pedicle Enhances Bone Formation in Tissue-Engineered Bone Using Interconnected Porous Hydroxyapatite Ceramics  |
| Author(s)    | 秋田, 鐘弼  |
| Citation     | 大阪大学, 2006, 博士論文  |
| Version Type |   |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/46259">https://hdl.handle.net/11094/46259</a>   |
| rights       |   |
| Note         | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"＞</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">＜/a＞</a> をご参照ください。 |

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

|            |   |
|------------|---|
| 氏名         | あき 秋 田 しょう 鐘 彌  |
| 博士の専攻分野の名称 | 博 士 (医 学)   |
| 学位記番号      | 第 19894 号   |
| 学位授与年月日    | 平成 18 年 1 月 19 日  |
| 学位授与の要件    | 学位規則第 4 条第 2 項該当  |
| 学位論文名      | Capillary Vessel Network Integration by Inserting a Vascular Pedicle Enhances Bone Formation in Tissue-Engineered Bone Using Interconnected Porous Hydroxyapatite Ceramics.<br>(連通多孔体ハイドロキシアパタイトへの血管束挿入による人工骨気孔内血管ネットワークの構築と骨再生の促進) |
| 論文審査委員     | (主査)<br>教授 吉川 秀樹<br><br>(副査)<br>教授 金田 安史 教授 細川 互  |

### 論文内容の要旨

#### [ 目的 ]

人工骨は自家骨に代わる骨補填材料として広く用いられているが、巨大な骨欠損部や血行不良部位での使用は未だ困難であり、血管柄付骨移植が主に用いられている。我々は、泡ゲル化技術を採用することによって、より深層まで細胞が入り込める気孔間連通孔を持ち、なおかつ適度な初期強度を兼ね備えた新規多孔体ハイドロキシアパタイト interconnected porous hydroxyapatite : 以下 IP-CHA を開発した。その連通気孔構造を生かして気孔内に毛細血管ネットワークが構築されれば、不良条件下での骨修復に人工骨を応用できる可能性がある。

今回我々は、この IP-CHA への血管束挿入によって連通孔内の毛細血管ネットワークの構築が可能かどうか、また、その新生血管が骨形成に及ぼす影響を検討した。

#### [ 方法ならびに成績 ]

麻醉下に 12 週雄の rat の下腹壁動静脈を剥離し、その遠位部を結紮切断する。直径 6 mm × 高さ 10 mm の円柱状 IP-CHA の中心部に径 1.5 mm の孔を長軸方向にあげ、そのあけた孔に沿って下腹壁動静脈を挿入する。次に、周囲からの血管新生を防ぐために IP-CHA をポリエチレンフィルターで包み、それを rat の鼠径部の皮下に移植する。

実験 1 : この操作をおこなった rat 6 匹を血管束挿入群、コントロールとして血管束の挿入のみしなかった 6 匹を非挿入群とした。IP-CHA 移植 6 週後に IP-CHA 内の血管増生を肉眼的かつ組織学的に評価した。また、これら 6 匹のうち半数は、別の皮切を胸部正中に入れ、左心室から india ink を 20 ml 注入し、ink を下肢に環流させた後 IP-CHA を取りだし評価した。

実験 2 : IP-CHA 内に構築された新生血管が骨形成に及ぼす影響を検討した。実験 1 と同じ操作を recombinant human bone morphogenetic protein-2 : 以下 rhBMP-2 を含浸させた IP-CHA を用いて行った。rhBMP-2 (10 μg/block) 含浸 IP-CHA では移植 3 週後に、新生骨の形成を定量的に評価した。新生骨の定量評価の方法は、IP-CHA を 3 等分した中央の組織標本に認められる新生骨の総面積を computer image analyzer の WinRoof を用いて算出し、血管束挿入群と非挿入群とを比較した。

結果1：肉眼所見では、全例挿入した血管束は、IP-CHAの入り口部、出口部で開存していた。また、india inkで環流させた後にとりだしたIP-CHAにおいて、血管束挿入群は全体が黒く染まっていたが、非挿入群のIP-CHAは黒く染まっていなかった。次に組織所見では、血管束挿入群では気孔内に数多くの比較的大きな血管を伴った線維芽細胞の侵入が認められた。それに対して、非挿入群では少数の線維芽細胞の侵入、微小血管の新生を観察できただけであった。india ink注入群の硬組織切片のToluidine blue染色では、血管束挿入群では数多くのindia inkを含んだ血管がIP-CHAに認められたが、非挿入群ではIP-CHA内にindia inkはほとんど認められなかった。また、血管内皮細胞を染めるVon Willebrand factorの免疫染色では、血管束挿入群では血管束により派生した数多くの毛細血管が認められた。以上より、IP-CHAの気孔内に毛細血管networkがよく発達し、挿入した血管束を介してIP-CHAがhost circulationと効果的に連結していると考えられた。

結果2：BMP含浸IP-CHAの血管束挿入群では気孔内に旺盛な骨形成があり、特に血管束近くの最深部にて観察された。非挿入群では新生骨は表層にごくわずかにしか認めなかった。新生骨の総面積では血管束挿入群では非挿入群に比べ約20倍の新生骨を認めた( $p < 0.05$ )。以上よりIP-CHA気孔内の微小血管ネットワークは骨形成を促進することが示唆された。

#### [ 総括 ]

骨に限らず多くの器官形成には、まず血管新生がおこると考えられている。血管新生は骨形成の過程において細胞、growth factor、などを供給するのに重要であり、最近、骨再生においても血管新生の重要性が認識されている。今回のわれわれの実験でも、血管新生が骨再生に重要な役割を果たしていることが証明された。しかし、単純に人工骨が骨欠損部へ移植された場合、血管新生および骨形成は人工骨の周囲からしか生じない。そのため、骨欠損部が大きい場合には、修復機転が十分に行われぬ可能性がある。そこで、人工骨に血管束を挿入すれば今回の実験で示したように、人工骨の内部からも骨形成が促進され、不良条件下での骨修復に人工骨を応用できる可能性が示された。

#### 論文審査の結果の要旨

ハイドロキシアパタイトは人工骨として広く用いられているが、大きな骨欠損部での使用は困難であり、血管柄付き骨移植が主に用いられている。しかし、血管柄付き骨移植には正常の骨を犠牲にしなければならないという大きな欠点がある。

本研究において、ほぼ全気孔が気孔間連通孔で連絡をとっている新規多孔体ハイドロキシアパタイト(以下IP-CHA)ヘラットの下腹壁動静脈を挿入することによって、IP-CHA気孔内に毛細血管ネットワークを構築することができ、かつその毛細血管ネットワークが骨形成を促進することが示された。

ハイドロキシアパタイトが骨欠損部へ移植された場合、骨形成はハイドロキシアパタイトの周囲からしか生じない。そこで、IP-CHAに血管束を挿入すればIP-CHAの内部からも骨形成が促進され、大きな骨欠損部にも血管柄付き骨移植のかわりにIP-CHAを用いることができる可能性がある。この研究成果は学位授与に値すると考えられる。