

## 学位論文審査の結果の要旨

令和2年11月27日

審査委員	主査	永平 智久		
	副主査	三宅 実		
	副主査	三木 崇光		
願出者	専攻	機能構築医学	部門	医用工学
	学籍番号	15D706	氏名	飛梅 祥子
論文題目	Effects of VEGF on Prefabricated Vascularized Bone Allografts in Rats			
学位論文の審査結果	<input checked="" type="radio"/> 合格 <input type="radio"/> 不合格      (該当するものを○で囲むこと。)			

## 〔要旨〕

骨組織再生に血管新生が重要であることに着目し、血管内皮増殖因子 (VEGF) を添加したハイドロキシアパタイト/コラーゲン複合体 (HAp/Col) を prefabricate した移植骨内に挿入することで移植骨内の骨形成を促進することを試みた。

【方法】9週齢の Sprague Dawley ラット (n=50) をドナーとして、9週齢の Wistar ラット (n=50) をレシピエントとして使用した。ドナーの大腿骨から採取した移植骨片をレシピエントの大腿部に移植し、伏在動静脈と 10 $\mu$ g の VEGF を添加した HAp/Col を移植骨内に挿入し4週間後に移植骨を回収した。移植骨内の血管新生、骨形成、骨吸収を組織学および遺伝学的に評価した。群分けは、血管束、HAp/Col、VEGF の使用の有無により5つのグループに分けた。(C群: コントロール群、骨移植のみ V群: 移植骨に血管束のみを挿入した群 HAp群: VEGF を添加していない HAp/Col を移植骨に挿入した群 HAp+V群: VEGF を添加していない HAp/Col と血管束を移植骨に挿入した群 VEGF+V群: VEGF を添加した HAp/Col と血管束を移植骨に挿入した群)

組織学的評価: 血管新生の評価では、VEGF+V群ではC群およびHAp群に比べて血管新生が有意に促進され、HAp+V群ではC群およびHAp群に比べて血管新生が促進される傾向にあった。骨形成の評価ではVEGF+V群でC、V、HAp、HAp+V群に比べて骨形成が有意に促進され、HAp+V群ではC、V、HAp群と比較して促進される傾向があった。骨吸収ではいずれの群間にも統計学的な差は認めなかった。遺伝学的評価: VEGF の発現レベルはVEGF+V群ではC、V、HAp群に比べて有意に高かった。BMP-2 の発現量は、VEGF+V群ではC、V、HAp群に比べて有意に高かった。BAP の発現レベルは、C、V、HAp群と比較して、HAp+V群およびVEGF+V群で有意に高かった。Type-1 Col の発現レベルは、VEGF+V群がC、V、HAp群に比べて有意に高かった。骨吸収関連遺伝子の発現量はいずれの群間にも統計学的な差は認めなかった。

## 【結論】

以上の結果から、VEGF 添加 HAp/Col を prefabricate した血管柄付き同種移植骨内に挿入することで血管新生と骨形成は促進され、骨吸収は促進されないことが示唆された。したがって、本法は広範な骨欠損を再建するための有用な手段になる可能性があると考えられた。

本研究に関する学位論文審査委員会は令和2年11月21日に行われた。

本研究は血管柄付き同種骨を作成し移植を行う際にVEGF(vascular endothelial growth factors)を添加し、その徐放材としてスポンジ状人工骨であるHydroxyapatite/Collagen(HAp/Col)を用いることで、良好な骨形成能を持つ血管柄付き同種移植骨が作成できることを指摘したもので、結果に対する十分な考察もなされている。本研究で得られた成果は、今後の臨床において、腫瘍切除術後や外傷による大きな骨欠損に対する、骨組織再建の発展において意義があり、学術的価値が高い。

委員会の合議により、本論文は博士（医学）の学位論文に十分値するものと判定した。

審査においては

1. ドナーとレシピエントの種類・性別が違う理由について
  2. 標本作成における包埋の仕方。パラフィンではなくJB-4を使った理由について
  3. 血管新生の評価について：血管内皮のCD31,34などの免疫染色をした方が良かったのではないか？
  4. VEGFにはアイソフォームがあるが、今回使用したものはどれか。
  5. VEGFRの種類などの確認はできているか
  6. VEGFの血管新生作用は長期的に経過を見ると、過剰な血管新生、腫瘍などの副作用についての副作用についての考え
  7. VEGF徐放のピークまでの期間が短い、骨癒合までの期間に対して短すぎると思うがどうか？2-5日目以降にもさらに追加投与すると良いのではないか？
  8. VEGFの生体内での濃度はわかるか？
  9. VEGFの投与量の決定の仕方
  10. ハイドロキシアパタイトの割合が多いが、これでは硬い人工骨ではないのか？焼成温度により硬さが変わるが、何度であるか
  11. コントロール群の移植骨を留置している位置は部位について
  12. HAp/Colと同種骨の関連性、相互作用。骨誘導されていたか、骨に置換されていたかについて
  13. 骨吸収されていないが、それでは骨形成されないのではないか？
  14. HAp/Colは臨床で使われているか？
  15. 実際の臨床で保険点数も決まっているが、具体的な方法がかかれていない  
実際どうしている？
  16. 実際の臨床でどのくらいAllo-graft使っているのか？
  17. 脱抗原化どうやっている？
  18. 臨床での骨腫瘍の放射線照射について、腫瘍細胞を死滅させて戻すことは実際にあるのか？その際にはその照射骨の再血管化について利用できるか
  19. ラットの伏在動静脈について、人間では静脈しかないが、動脈もあるのか
  20. 移植骨には伏在動静脈両方入れたのか？
  21. 今回のラットでは結果が良かったが、今後の別の動物、ウサギとかでどうか？先行論文あるか？
21. prefabricateして骨欠損部にとり戻すとしたらどの骨が一番多使われると考えるか。  
Prefabricateするためにまずどこで移植骨を血管化するか。大きい骨であれば置いておく場所があるのか  
などについて多数の質問が行われた。申請者はいずれにも明確に回答し、医学博士の学位授与に値する十分な見識と能力を有することが認められた。

掲 載 誌 名	Journal of Reconstructive Microsurgery		
	DOI 0.1055/s-0040-1718394		
(公表予定) 掲 載 年 月	2020年10月14日	出版社(等)名	on line

(備考) 要旨は、1, 500字以内にまとめてください。