

Title	Osteogenic effect of fluvastatin local-administration using a fluvastatin-gelatin complex in senile osteoporosis model rats
Author(s)	安田, 博光
Journal	, (): -
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10130/3396">http://hdl.handle.net/10130/3396</a>
Right	

氏名	安田 博光
学位	博士 (歯学)
学位記番号	第 2 0 2 5 号 (甲 第 1 2 5 9 号)
学位授与年月日	平成 2 6 年 3 月 3 1 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項
論文審査委員	主査 矢島 安朝 教授 副査 井上 孝 教授 副査 佐藤 亨 教授 副査 東 俊文 教授 副査 吉成 正雄 教授
学位論文名	Osteogenic effect of fluvastatin local-administration using a fluvastatin-gelatin complex in senile osteoporosis model rats

## 学位論文内容の要旨

### 1. 研究目的

HMG-CoA 還元酵素を阻害するスタチン系薬剤は、高脂血症治療薬として知られている。また、骨形成タンパクである BMP-2 の発現を増強することによる骨形成促進作用が知られている。現在、骨粗鬆症の研究では閉経後骨粗鬆症をモデルとした卵巣摘出動物においてスタチン投与の効果が報告されている。しかし、老人性骨粗鬆症におけるスタチンの効果については報告されていない。低代謝型骨粗鬆症は、加齢により女性だけではなく男性患者にも生じるため、骨質の改善と骨治癒を促進する方法を確立することは重要な課題と考えられる。そこで本研究は、老人性骨粗鬆症モデルラットを用いて、骨欠損部の治癒過程に及ぼすフルバスタチンの局所投与の影響を明らかにすることを目的とした。

### 2. 研究方法

ゼラチンを保持するためのチタンチューブを作製した。厚さ 20 $\mu$ m のチタン箔を直径 1.5mm、高さ 2.2mm の円筒状に成型した。チタンチューブをゼラチンハイドロゲルに浸漬したのち、2 時間の紫外線照射で架橋し、凍結乾燥した (担体)。試料を 2 群に分け、スタチン群では担体をフルバスタチン溶液(300 $\mu$ M) に浸漬し、フルバスタチンとゼラチンの複合体を作製した。コントロール群では滅菌水に浸漬した。動物実験には老人性骨粗鬆症モデルラットである SHRSP ラットを用いた。ペントバルビタール腹腔内投与下にて左右の大腿骨中央部に直径 1.5mm の骨欠損を形成し、左側にスタチン群、右側にコントロール群の試料を埋入し、創を閉鎖した。

実験期間は術後 7, 14, 21 日目とした。放射線学的評価として、各群を実験動物用  $\mu$ -CT 装置による X

線画像を撮影し、三次元骨梁構造計測ソフトウェアにより新生骨量の定量を行った。関心領域は直径 0.85mm、高さ 2.75mm の円柱状の範囲とした。また、組織学的観察（H-E 染色）、および免疫組織化学染色（BMP-2, Runx2）を行った。

### 3. 研究成績および結論

$\mu$ -CT 画像上で、スタチン群ではコントロール群より多くの新生骨形成が観察された。新生骨量の定量の結果、スタチン群では術後 14 日目、21 日目でコントロール群と比較して有意に骨量の増加を認めた。組織学的観察では骨髄領域内に新生骨形成が観察され、コントロール群と比較してスタチン群で新生骨の形成が多く観察された。また、免疫組織化学染色では、術後 7 日目においてスタチン群の骨髄腔および、皮質骨の骨内膜付近に BMP-2 と Runx2 の陽性反応が強く認められた。

以上より、フルバスタチンとゼラチンの複合体の局所投与は骨粗鬆症モデルラットの骨形成を促進することが示唆された。

最終試験の結果の要旨および担当者

報告番号	甲 第1259号	氏名	安田 博光
最終試験担当者	主 査	矢島 安朝	教 授
	副 査	井上 孝	教 授
		佐藤 亨	教 授
		東 俊文	教 授
		吉成 正雄	教 授
最終試験施行日	平成25年11月20日		
試験科目	歯科補綴学		
試験方法	口頭試問		
試験問題	主題ならびに関連問題		
<p><u>結果の要旨</u></p> <p>本審査委員会は主題ならびに関連問題について最終試験を行った結果、十分な学識を有することを認め、合格と判定した。</p>			

## 学位論文審査の要旨

本論文は、老人性骨粗鬆症モデルラットを用いて骨欠損部の治癒過程に及ぼすフルバスタチンとゼラチンの複合体の局所投与の影響を明らかにすることを目的とした。

放射線学的評価では、スタチン群では術後 14 日目、21 日目でコントロール群と比較して有意に骨量の増加を認めた。組織学的観察では骨髄領域内および、穿孔した反対側の皮質骨内側付近に新生骨形成が観察された。また、免疫組織化学染色では、術後 7 日目においてスタチン群の骨髄腔および、皮質骨の骨内膜付近に BMP-2 と Runx2 の陽性反応が強く認められた。以上より、フルバスタチンとゼラチンの複合体の局所投与は骨粗鬆症モデルラットの骨形成を促進することが示唆された。

本審査委員会では、1) 本論文の新規性、強調したい点は何か、2) コントロール群の設定として健常ラットを用いなかった理由、3) フルバスタチンの濃度決定の根拠、4) 関心領域設定の理由、5) フルバスタチンはどのような機序で骨形成を促すのか等の質問があった。

これに対して、1) 本論文では、薬剤の担体としてゼラチンを用い、フルバスタチンとゼラチンの複合体を局所投与することで老人性骨粗鬆症モデルラットでの新生骨形成を確認した。このことから、より目的に適したタイトル、キーワードに変更した。2) 先行論文にて、健常ラットでのフルバスタチンとゼラチンの複合体の局所投与効果が確認されていたことから、本論文ではコントロール群をフルバスタチン未含有の試料とした。3) 予備実験において、フルバスタチンの濃度を 1mM、600 $\mu$ M、300 $\mu$ M として検討を行った。高濃度のフルバスタチンを投与した場合、新生骨形成は促進されず、300 $\mu$ M では新生骨の形成が確認されたことから、本論文での濃度とした。4) フルバスタチンが試料外に徐放されることで、穿孔した反対側の皮質骨周囲より新生骨が形成された。これはフルバスタチンが骨内膜の細胞を賦活化したためと考えられたため、関心領域を試料の外側におよぶ領域まで設定した。5) 過去の報告で、スタチンは BMP-2 の発現を促進することが報告されている。本論文では骨髄内の未分化間葉系幹細胞の骨芽細胞への分化を促進し、さらに骨内膜の細胞を賦活化することで新生骨が形成されたと考えられた。

との回答があり、その他の質問に関しても概ね妥当な回答が得られた。さらに手術方法への追加記載、図表の訂正、英文表現方法の誤り、考察への追加事項等が指摘され、審査後これらは早急に訂正追加された。

以上より、本研究で得られた成果は今後の歯学の進歩、発展に寄与するところ大であり、学位授与に値するものと判定した。