







学位論文審査の結果及び最終試験の結果の要旨

学位申請者氏名	Radyum Ikono		
学位論文名	Enhanced bone regeneration capability of chitosan sponge coated with TiO ₂ nanoparticles (TiO ₂ ナノ粒子添加によるキトサンスポンジ担体の骨再生能の向上)		
論文審査委員	主査：	松本歯科大学 教授	宇田川信之 
	副査：	松本歯科大学 教授	亀山敦史 
	副査：	松本歯科大学 講師	横井由紀子 
	副査：		
	副査：		
	副査：		
最終試験	実施年月日	2020 年 8 月 25 日	
	試験方法	□答 ・ 筆答	
学位論文の要旨			
<p>キトサンはティッシュエンジニアリング用の担体として広く用いられているが、骨再生用の担体として適しているとはいえない。特に、機械的強度が十分ではないことや、骨分化誘導能を有さない点が課題であった。</p> <p>本研究ではキトサンに骨分化誘導能を有する TiO₂ のナノ粒子を加えることにより、骨再生用の担体としての有用性を検討した。キトサン-TiO₂ ナノ粒子含有スポンジ担体の作製は、キトサンパウダーとナノ TiO₂ 粒子を 1% (v/v) CH₃COOH 中に溶解し、これと NaOH 水溶液とを混合、攪拌し、その沈殿物として回収した。ナノ TiO₂ 粒子の含有量は、0%、12.5%、25%、50% の 4 種類とした。担体の形態は走査型電子顕微鏡を用いて観察した。次に結晶構造を X 線回折にて解析した。また、この担体を simulated body fluid (SBF) 溶液中に浸漬し、溶出物の測定を行った。次に 3 週齢雄 C57BL/6J マウスの脛骨、大腿骨より単核球分画を分取し、2 継代目の間葉系幹細胞 1x10⁴/cm² を担体に播種した。Osteocalcin (OCN) と Dentin matrix protein 1 (DMP1) の遺伝子発現を定量的 RT-PCR にて測定した。担体への接着細胞数は WST-8 を用いて測定した。</p> <p>Crystal violet にて染色し、実体顕微鏡下で接着細胞の観察を行った。形態学および結晶解析の結果から、得られたキトサンスポンジは、多孔質の連通孔を持つ構造であった。TiO₂ の結晶構造はアナターゼ型であり、キトサンスポンジ表面に均等に分布していた。分解度試験では、TiO₂ ナノ粒子を添加されていないキトサンスポンジが 7 日で崩壊したのに対し、すべての添加群では 2 週間形態が維持されていた。溶出物の解析では、TiO₂ ナノ粒子添加群では PO₄³⁻ のバンドが認められたが、これはスポンジ表層にハイドロキシアパタイトが形成されたことを表している。間葉系幹細胞をこの担体に播種後骨分化誘導を行い、骨分化マーカーである OCN と DMP1 の発現を解析した。OCN、DMP1 の発現は、TiO₂ ナノ粒子の含有量が 50% の群において、TiO₂ ナノ粒子を含まない担体の 2 倍程度に増加していた。また、TiO₂ ナノ粒子の含有量が上昇するにつれて接着細胞数が増加し、その結果は crystal violet による染色でも確認された。</p> <p>本研究では、キトサンスポンジの機械的性質の改善と骨分化誘導能を期待して、TiO₂ ナノ粒子を添加することで新たな担体を作製した。12.5% 以上の TiO₂ ナノ粒子を加えることで分解速度を 7 日間から 14 日以上と改善された。</p> <p>間葉系幹細胞を用いた in vitro 骨分化誘導実験の結果では、50% TiO₂ ナノ顆粒添加群では OCN と DMP1 の発現が上昇したことから、骨分化を促進することが明らかとなった。50%</p>			

(様式第 13 号)

添加群での骨分化の促進は、TiO₂の骨分化誘導促進作用と担体の強度の向上によるものと推測された。

本研究の結果から、新たに作製されたキトサン・TiO₂ナノ粒子スポンジ担体は、骨再生用の担体として有用と考えられた。

学位論文審査結果の要旨

本研究では、キトサンに TiO₂ナノ粒子を加えることで、分解速度を遅らせ、かつ骨分化を促進する機能を持った優れた骨再生用の担体を作製できる可能性が示された。

本研究は生体吸収性の担体であるキトサンに添加した TiO₂ ナノ粒子の効果を初めて示した点で重要であり、得られた成果は今後歯科領域にも応用可能と考えられるため、本論文が博士(歯学)の学位論文に値すると判断した。

最終試験結果の要旨

学位論文の内容に関する質疑に加え、以下のような項目を中心に口頭による試験を行った。

1. 再生医療に用いられる担体の種類について.
2. 組織再生に必要な担体以外の2つの要素について.
3. 本研究で TiO₂を用いた理由について.
4. 本研究で本来実施すべきと考えられる統計処理の方法について.

以上の質問に対して適切な解答が得られたことから、学位申請者は博士課程(歯学)の修了者として十分な知識と学力を有していると判断し、最終試験を合格と判定した。

判 定 結 果

合格

不合格

備考

- 1 学位論文名が外国語で表示されている場合には、日本語訳を()を付して記入すること。
- 2 学位論文名が日本語で表示されている場合には、英語訳を()を付して記入すること。
- 3 論文審査委員名の前に、所属機関・職名を記入すること。