

論文内容の要旨

論文提出者	(氏名) 篠崎陽介
論文題目	Osteogenic Evaluation of DNA/Protamine Complex Paste in Rat Cranial Defects

DNAは抗原性がなく、サイトカインなどと結合するなど生体材料の素材として優れた性質を有している。また、抗菌、静菌作用のあるプロタミンと反応し、水不溶性の複合体になり、水と練和するとペーストになる特徴がある。また、このDNA/プロタミン複合体(D/P)は細胞毒性をほとんど示さず、制菌作用を有し、ラット皮下組織における反応もマイルドであるなど生体分解性生体材料に適した性質を具備している。さらに、この複合体は骨形成を促進するリン基を有し、プロタミンは骨シアロタンパクの形成を誘導するとされている。そこで、この複合体は骨形成を促進する骨補填材の材料として有望と考え、ラット頭蓋骨欠損モデルにてこのDNA/プロタミン複合体の新生骨形成能の評価を行った。

サケ白子より抽出したDNAとプロタミンを反応させ、DNA/プロタミン複合体の作製を行った。骨芽細胞様細胞のMC3T3-E1をDNA/プロタミン薄膜上にて培養し、その細胞のALP活性の測定を行った。また、10週齢雄性SDラットの頭蓋骨にφ8.0mmの欠損を作製し、滅菌水で混和したDNA/プロタミン複合体を埋入(D/P群)した。そして、1,2,3か月後の新生骨形成の評価を、 μ CT、病理組織(HE染色、Villanueva染色)にて行った。なお、欠損部位に材料を埋入しないものをコントロール群とした。

DNA/プロタミン薄膜上にて3日および5日間培養したMC3T3-E1のALP活性は、プラスチック上で培養した細胞と比較して有意に高かった。 μ CT分析においては、処置後1,2,3か月での欠損部新生骨形成率はコントロール群と比較してD/P群が有意に高く、1,2,3か月での新生骨形成は21.2%,47.6%,65.5%であった。欠損部位での骨形成状態をHE染色組織で比較したところ、埋入3ヶ月後のコントロール群は新生骨の形成はわずかであったが、D/P群はほとんど新生骨にて置換されていた。Villanueva染色ではD/P群にて処置後1,2,3か月にて石灰化骨、類骨が確認された。

MC3T3-E1のALP活性はD/P群で著しく向上しており、DNA/プロタミン複合体に骨化誘導能があることが示唆された。また、 μ CT画像分析や病理組織観察にて新生骨の形成が認められ、Villanueva染色においても新生骨形成部周囲からの骨形成能活性化を認めたので、この複合体には優れた骨形成能があると考えられる。

DNA/プロタミン複合体は新生骨形成を誘導することが明らかとなった。したがって、この複合体は骨補填材の材料として有望であると考えられる。