

論文の内容の要旨

氏名：小澤 康 正

博士の専攻分野の名称：博士(歯学)

論文題名：Effect of bone augmentation ability of hydroxyapatite/collagen composite compared to absorbable collagen sponge

(吸収性コラーゲン・スポンジと比較したハイドロキシアパタイト/コラーゲン複合体の骨増生能の有意性)

重度の歯周病で歯槽骨の吸収が著しい場合、抜歯に至ることがある。その後、インプラント治療を行うために、顎堤の骨増生を行わなければならない症例が多数ある。顎堤を増生させるためには自家骨を応用することがゴールドスタンダードだが、獲得できる採取量の問題など多くの制限がある。そこで、自家骨に代わる材料として、種々の人工材料が開発されている。その中でもコラーゲンは生体親和性が高く、生体内で自然吸収されるため、抜歯窩などの治癒促進に応用されている。また、ハイドロキシアパタイト (Hydroxyapatite: HAP) は骨の主要構成成分の 1 つであり、骨補填材として広く臨床応用されている。

そこで、本研究ではコラーゲン・スポンジ (Absorbable collagen sponge: ACS) と高多孔性 HAP/Col 複合体 (Hydroxyapatite/collagen composite: HAP/Col) の骨増生についてラット頭頂骨 Guided bone augmentation (GBA) モデルを用いて比較検討した。

実験には 10 週齢の雄性 Fisher 系ラット F344/jcl (200-220 g) を用いた。ラットは、自由に食物と水を摂取させ、温度 $22 \pm 5^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ の恒温恒湿下 12 時間の明暗サイクルで飼育し、2 週間の予備飼育の後に実験に用いた。足場材として、ACS と HAP/Col をそれぞれ用いた。吸入麻酔 (イソフルラン 2%) 後、塩酸メデトミジン 0.15 mg/kg 、ミダゾラム 2.0 mg/kg と酒石酸ブトルフェノール 2.5 mg/kg を混合した 3 種混合麻酔剤の腹腔内注射によって全身麻酔を行った。さらに、2% キシロカインによる局所麻酔を行い、頭頂部を剃毛し、矢状縫合に沿って長さ 60 mm の皮膚切開を加え、骨膜を剥離し、頭頂骨を露出させた。頭頂骨の矢状縫合を挟んで左右対称性に生理食塩水による注水下で直径 5 mm のトレファインバーを用いて外周溝を作製した。外周溝の内側にラウンドバー (No. 2) を用いて、出血を誘発するための骨髄穿通を行い、実験母地を作製した。ACS または HAP/Col を填入したプラスチックキャップを外周溝に沿って嵌合させ、それぞれを ACS 群および HAP/Col 群とした。また、ラット頭頂骨に直径 5 mm の臨界骨欠損を作製し、HAP/Col を填入した群も作製した (臨海骨欠損群)。その後、骨膜および皮膚を復位して縫合した。キャップ内の新生骨様組織の観察は、実験動物用 3D マイクロ CT を用いて、i-View ソフトウェアで、撮影した画像を再構築して 3 軸方向での観察を行った。定量的評価では、キャップ内の関心領域 (Region of interests: ROI) における新生骨様組織の体積 (Bone volume: BV) と密度 (Bone mineral density: BMD) を、骨体積計測ソフトウェアを用いて測定・分析した。術後 12 週で前述の方法でラットに全身麻酔を施し、4% パラホルムアルデヒドで灌流固定を行った。その後、キャップが設置してある頭頂骨を切除して固定液 (4% パラホルムアルデヒド) に浸漬し、10% の EDTA 溶液で脱灰後通法に従いパラフィン包埋した。前頭面に平行に薄切切片 (厚さ $4 \mu\text{m}$) を作製後、ヘマトキシリン・エオジン (H&E) 染色、tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) 染色および alkaline phosphatase (ALP) 染色を行い、組織学的観察を行った。各群の比較には Mann-Whitney *U* rank test を用いて統計分析を行い、危険率は 5% とした。

術後 2, 4, 8 および 12 週のマイクロ CT による観察の結果、HAP/Col 群における骨増生は術後 4 週から認められ、その後、徐々に増加し、12 週で ROI は、新生骨様組織を示す不透過像で満たされた。一方 ACS 群では、骨増生は術後 8 週から始まり 12 週で認められたが、HAP/Col 群より量は少なかった。臨海骨欠損群では術後 12 週の観察ではわずかな不透過像が認められただけであった。

新生骨様組織の定量的評価の結果、ACS 群、HAP/Col 群共に BV および BMD の経時的な増加を認めたが、術後 2 週から 8 週で、ACS 群と比較して HAP/Col 群では有意に増加し、術後 12 週で ACS 群

のほぼ 2 倍に達した。骨体積計測ソフトウェアを用いて新生骨様組織を緑色で表示したところ、ACS 群に比較して HAP/Co1 群で新生骨様組織の領域が顕著に広いことがわかった。

組織切片を術後 12 週で比較したところ、ACS 群ではわずかな新生骨 (New bone: NB) 形成が観察されたのに対し、HAP/Co1 群では NB がキャップを満たしている像が観察された。また、TRAP 染色と ALP 染色を用いて、破骨細胞および骨芽細胞の観察を行ったが、両マーカーに対する染色性は両群ともに低かった。垂直方向への骨増生量を測定したところ、HAP/Co1 群では ACS 群に比較し、面積が約 1.6 倍、高さが約 1.75 倍であった。

本研究の結果から、ラット GBA モデルにおける骨増生は ACS と比較して HAP/Co1 でより顕著に促進されることが明らかとなった。