

論文の内容の要旨

氏名：久保田 達 也

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名： Regenerative ability of augmented bone in rat calvarial guided bone augmentation model

（ラット GBA モデルによって得られた増生骨の再生能）

近年歯科インプラント治療は、欠損補綴の選択肢の一つとして広く普及している。しかし、インプラント埋入に際し、骨幅および骨の高さが不足した場合、埋入前処置が必要となる。一般的には、骨再生誘導（guided bone regeneration: GBR）法が、インプラント埋入に必要な骨量を確保するために行われる。GBR 法を行う場合、再生の足場（補填材）として自家骨を用いることがゴールドスタンダードである。しかし、問題点として自家骨は、採取量に制限があることや骨再生が不確実であることなどが挙げられている。

これまで著者の所属する研究グループでは、規格化されたプラスチックキャップ（キャップ）をラット頭頂骨に設置した guided bone augmentation (GBA) モデルを用いて、骨外側方向に増生骨を確実に獲得できることを明らかにしてきた。しかし、その増生骨を GBR などの骨再生に応用できるかどうかは不明である。そこで本研究は、GBA によって得られた増生骨の骨再生能を検討するために、ラット GBA モデルで獲得した増生骨を骨補填材として、臨界骨欠損に用いた場合の骨再生を、放射線学および組織学的に検討した。

はじめに、ラット GBA モデルによって得られた増生骨について検討した。動物は、雄性近交系ラット (F344/jcl Fischer, 8 週齢) 5 頭とし、術前にイソフルランによる吸入麻酔後、塩酸メドミジン (0.15 mg/kg)、ミダゾラム (2.0 mg/kg)、酒石酸ブトルファノール (2.5 mg/kg) の三種混合麻酔薬を腹腔内に投与した後、局所麻酔として塩酸リドカイン (1/80,000 エピネフリン含有 2% キシロカイン) を 0.5 ml 注射した。次いで、手術部位の頭頂骨相当部を剃毛し、頭頂部に約 6 cm の皮膚切開を加え、その後、骨膜を切開剥離翻転し頭頂骨を露出した。生理食塩水注水下で直径 5.0 mm のトレファインバーを用いて、矢状縫合の左右両側に 2 箇所の外周溝を形成、外周溝の内側に No. 2 のラウンドバーを用いて 5 箇所の骨髄穿孔孔を形成した。キャップを外周溝に嵌合させスーパーボンドを用いて固定した。術後 12 週に安楽死させ、GBA によって得られた増生骨のマイクロ CT 撮影および組織切片を作製した。マイクロ CT 撮影は、ラットをマイクロ CT 撮影機内のステージ上に固定して、90 kV および 100 μ A の条件で行った。組織切片の作製は、骨欠損部位と周囲の組織を一塊として摘出した。その後、10% 中性緩衝ホルマリン溶液を用いて固定し、10% ギ酸水溶液で脱灰した後パラフィン包埋した。標本は、マイクロトームを用いて厚さ 4 μ m に薄切し、HE 染色、RUNX2 染色および TRAP 染色を行った。

次いで、増生骨を骨補填材として用いた場合の臨界骨欠損に対する骨再生を自家骨と比較した。ラット 20 頭を無作為に増生骨 (AB) 群と自家骨 (AU) 群の 2 群に分けた。AB 群は、前述の実験方法と同様に、頭頂骨を露出させ、矢状縫合の左側にキャップを設置した。AU 群では同様に、頭頂骨を露出し、その後、直ちに縫合した。手術 12 週後、同様の方法で、頭頂骨を再度、露出し、矢状縫合の右側に直径 5.0 mm の臨界骨欠損をトレファインバーにて作製した。AB 群は、左側に設置したキャップを注意深く除去し、キャップ内の増生骨を慎重に採取し、右側の臨界骨欠損に充填した。一方、AU 群は、矢状縫合の左側よりボーンスクレーパーを用いて自家骨を採取し、臨界骨欠損に充填した。

骨充填直後から、マイクロ CT を用いて、臨界骨欠損の骨再生の経日的な変化を施術直後から 12 週まで 4 週毎に観察した。撮影は、前述の方法と同様、画像再構成は、露出パラメータで関心領域を画像化し、i-View ソフトウェアを用いて定量的に評価した。関心領域は、直径 5 mm、高さ 3 mm の骨欠損部とした。組織切片は、前述と同様の方法を用いて作製し、HE 染色、RUNX2 染色および TRAP 染色を行った。

組織形態計測は、光学顕微鏡下で撮影した組織切片を用いた。骨欠損部の閉鎖率 (%) は、各群の

HE 染色切片を用いて計測した。また、RUNX2 染色および TRAP 染色切片を用いて、骨欠損中央部の骨芽細胞数および破骨細胞数をカウントし、その平均値を求めた。

ラット GBA モデルによって得られたキャップ内には、既存骨と同様の新生骨様組織が認められた。HE 染色切片から既存骨と同程度の石灰化した骨が観察され血管も多数観察された。また、RUNX2 染色および TRAP 染色切片から、既存骨と比較して多くの骨芽細胞および破骨細胞が認められた。

増生骨を骨補填材として用いた場合の臨界骨欠損に対する骨再生のマイクロ CT 観察では、AB 群および AU 群ともに術後 8 週以降に、骨欠損部に不透過性の充進が認められた。また、定量分析では AB 群および AU 群ともに 0-12 週において経日的に骨体積が増加したが、両群間に有意差は認められなかった。HE 染色切片では、AB 群および AU 群ともに石灰化した組織によって骨欠損が減少していた。骨欠損閉鎖率は、AB 群と AU 群の間に有意差は認められなかった。また、RUNX2 染色および TRAP 染色切片から、AB 群では AU 群に比較して有意に多くの骨芽細胞と破骨細胞が観察された。

以上のように、本実験の結果からラット GBA モデルによって得られた増生骨は臨界骨欠損に対して、自家骨と同様の骨再生能が明らかとなった。したがって、GBA によって獲得した増生骨を自家骨の代替としてインプラント治療や他の再生治療に応用できる可能性が示唆された。