

学位研究紹介

ハイドロキシアパタイト補填材と熱可塑性吸収プレート併用による骨再生の組織学的検索

Histological examinations on the bone regeneration achieved by combining grafting with hydroxyapatite and thermoplastic bioresorbable plates

新潟大学大学院医歯学総合研究科口腔生命科学専攻
顎顔面再建学講座 組織再建口腔外科学分野

小島 拓

Division of Reconstructive Surgery for Oral and Maxillofacial
Region, Department of Tissue Regeneration and
Reconstruction, Course of Oral Life Science,
Niigata University Graduate School of Medical and Dental
Sciences

Taku Kojima

【目 的】

歯科口腔外科領域の骨欠損治療では、自家骨や人工材料の移植に加え、骨再生誘導術(guided bone regeneration: GBR)が盛んに行われている。骨再生誘導術とは、骨欠損部を膜で被覆して封鎖された空間を形成することで周囲軟組織の侵入を防止し、膜の外形に沿った骨新生を期待する治療法である。しかしながら、従来の膜を用いた方法では形態付与のための強度が不十分であり、期待する骨形態・増生を誘導することは困難である。そこで本研究では、強度的に優れ、また熱可塑性のため形態付与も容易である生体親和性ポリ乳酸プレートを骨再生誘導術の膜の代わりに応用し、さらに骨伝導能を有するハイドロキシアパタイトを骨補填剤として併用した動物実験モデルを作製した。骨窩洞内に誘導される新生骨の形成機序を組織学的に検索するだけでなく、治療後の良好な骨質を維持する点からもカップリングや骨膜形成、さらに元素マッピング等の解析を加えた。

【方 法】

生後12週齢雄性Wistar系ラットの頭蓋骨中央部に直

径5mmの骨窩洞を形成し、ハイドロキシアパタイトとアテロコラーゲンで構成された骨補填材(Boneject[®])を充填して、ドーム状に形態付与したポリ乳酸プレート(DeltaSystem[®])で被覆した。術後1, 2, 4, 8, 12週に同部位をパラフィンおよびエポキシ樹脂包埋し、これらの光顕・電顕切片を作製してalkaline phosphatase (ALP), osteopontin (OPN), periostin, 酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ (TRAP) 組織化学, 透過型電子顕微鏡を用いた微細構造学的観察, さらにはelectron probe microanalyzer (EPMA)によるCa, Pの元素マッピングを行った。

【結果および考察】

新生骨は経時的に骨窩洞からプレート側に向かって形成されており、また、幼弱骨から緻密骨へと移り変わってゆくのが観察された。すなわち、術後1週では、プレートと既存骨との間隙からの細胞侵入はなく、また炎症性細胞も観察されなかった。窩洞内に侵入する細胞は全て窩洞底部に由来し、それらは窩洞中央部まで侵入していた。また、Boneject[®]顆粒は窩洞内に均一に充填されており、侵入細胞周囲のBoneject[®]顆粒表層は強いOPN陽性反応を示した。窩洞底部では、既存骨から連続する新生骨を認め、それらの表層には多数のALP陽性骨芽細胞を認めた。しかしながら、窩洞底部のBoneject[®]顆粒表面にはALP陽性細胞よりも先にTRAP陽性破骨細胞が定着・局在していた。術後2週では、プレート付近にまで細胞が進入し、窩洞全域のBoneject[®]顆粒表層にOPN陽性反応を認めた。Boneject[®]表面では、先に定着した破骨細胞に隣接して骨芽細胞が局在し、その直下には新生骨を観察した。これらの現象は電顕でも観察され、術後1週ではBoneject[®]に直接接着する破骨細胞を、術後2週ではBoneject[®]上にコラーゲン線維を分泌する骨芽細胞を認めた。従って、Boneject[®]顆粒表面では破骨細胞が定着・移動したあとに骨芽細胞の遊走・骨形成が誘導される“カップリング”が推測された。一方、まだ幼弱な線維性骨の様相を呈する新生骨にも骨改造を示すセメントラインを認めた。術後4週にはプレート境界部にまで骨新生が誘導され、新生骨とプレートの間にはperiostin陽性(骨外膜のマーカー)骨膜組織が形成されていた。この時期の新生骨を電顕観察すると、コラーゲン線維の走行は不規則であり有機成分が多いこと、またEPMAによるCa, P濃度の分布も既存骨よりも低かったことから、まだ緻密骨に達していないことが示された。

術後8週, 12週では, periostin 陽性骨膜様組織はより明瞭に局在し, その直下の新生骨は組織学的に層板骨を示していた。また, それらの骨表層にはほとんど破骨細胞を認めず, その直下の骨吸収が容易に誘導されない環境を作り上げていると考えられた。一方で, 窩洞内部の新生骨も経時的に骨梁幅を増加させた。電顕観察ではコラーゲン線維が整然と密に走行しており, また EPMA では新生骨の Ca, P 濃度が既存骨と同等の値を示していたことから, 新生骨の緻密化が確認された。一連の実験期間において, ドーム状に形態付与したプレートの外形に一致した新生骨が誘導され, また経時的に緻密骨化したことは, この方法がカップリングや骨外膜形成などの生理的環境を提供することに基づいていると推測される。

【結 論】

ハイドロキシアパタイト補填材と熱可塑性吸収プレートの併用により, 骨増生を考慮した骨再生が誘導されることが示唆された。プレートの形態に沿った緻密骨が誘導されたことから, 有用な臨床応用が期待される。

【参考文献】

Kojima T, Amizuka N, Suzuki A, Freitas PHL, Yoshizawa M, Kudo A, Saito C, Maeda T: Histological examinations on the bone regeneration achieved by combining grafting with hydroxyapatite and thermoplastic bioresorbable plates. *J Bone Miner Metab*, 2007, in press.