

## 学 位 研 究 紹 介

コラーゲン性吸収性膜を用いたGBR法  
に関する組織学的観察A Histological Evaluation for Guided  
Bone Regeneration with a  
Collagenous Membrane Applied to  
Bone Defects新潟大学大学院医歯学総合研究科  
加齢・高齢者歯科学分野

田口 裕哉

Division of Oral Health in Aging and Fixed Prosthodontics,  
Niigata University Graduate School of  
Medical and Dental Sciences  
Yuya Taguchi

## I. 目 的

インプラント植立の前処置として、骨欠損における骨増生を目的としたGBR法(Guided Bone Regeneration)が試みられている。GBR法に用いる遮断膜には生体吸収性膜と非吸収性膜があり、現在までePTFE膜に代表される非吸収性膜が主流とされてきた。ePTFE膜を用いたGBR法については多くの基礎的・臨床的成果が報告されており、良好な結果が期待できるとされている。一方、近年注目を浴びてきている生体吸収性膜を用いたGBR法に関する報告は、臨床手技に関するものや誘導された新生骨の骨量を非吸収性膜を用いた場合と比較したものが多く、その新生骨形成過程の詳細について報告したものは少ない。

そこで今回、コラーゲン性吸収性膜を用いた際の骨形成過程の詳細を明らかにすることを目的とし、ラット上顎骨骨欠損部にブタ由来タイプIコラーゲンを主成分とするコラーゲン性吸収性膜を用いたGBR法を行い、その骨形成過程を組織化学的手法を用いて経時的に観察し、吸収性膜と骨形成系細胞との関連性を中心に検索した。

## II. 方 法

生後4週齢の雄性ウイスター系ラットの両側上顎第一、第二臼歯を抜歯し、4週間後に同部位の粘膜骨膜弁を剥離し、第三臼歯近心面から近心方向に約2mmの部

位に、滅菌生理食塩水注水下で $\phi 1\text{ mm}$ のエンジン用ラウンドバーにて近遠心的に長さ2.5mm、深さ1mmの骨窩洞の形成を行った。4×5mmに成形したコラーゲン性生体吸収性膜(Bio-Gide<sup>®</sup>)を窩洞上に設置後(GBR群)、粘膜骨膜弁を縫合した。一方、反対側は、コントロール群とし骨窩洞のみとした。術後1, 2, 3, 4週後に頭部灌流固定を行い、脱灰後、試料をパラフィン包埋した。厚さ5 $\mu\text{m}$ のパラフィン切片にH-E染色、免疫組織化学としてアルカリホスファターゼ(ALP)、オステオポンチン(OPN)、オステオカルシン(OCN)免疫染色、酵素組織化学として酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ(TRAP)染色を行い、光学顕微鏡下にて観察を行った。

## III. 結果と考察

吸収性膜を付与していないコントロール群では、術後1, 2週では骨窩洞底面からALP陽性骨芽細胞系細胞が骨窩洞内に侵入し、幼弱な線維性骨が形成されていたが、新生骨の高さは既存骨まで達していなかった。線維性骨上にはALP陽性強陽性を示す骨芽細胞が広く存在し、TRAP陽性破骨細胞は散在性に認められた。術後3週以降では、リモデリングの進行とともに線維性骨は緻密骨へと置換されており、骨髓腔壁および骨梁表面には扁平なALP弱陽性骨芽細胞とTRAP陽性破骨細胞が観察された。術後4週目には新生骨が既存骨の高さまで達し、骨窩洞を形成された上顎骨はその形態を回復した。

一方、GBR群では術後1, 2週において、骨窩洞底面からALP陽性骨芽細胞系細胞の浸潤およびその後の線維性骨の形成が吸収性膜の近くまで認められた。特に術後2週では、コントロール群で新生骨表面にのみ観察されたALP陽性細胞が新生骨表面だけでなく、コラーゲン性吸収性膜直下ならびに膜内のコラーゲン線維間に認められ、またALP陽性細胞の局在とほぼ一致して骨基質タンパクであるOPN, OCNの免疫陽性反応が観察された。吸収性膜と線維性骨との間にはALP陰性細胞またはOPN, OCN免疫陰性の領域が介在したことから、コラーゲン性吸収性膜が骨原生細胞から骨芽細胞への分化促進に関与する可能性が強く示唆された。さらに、3週以降では、線維性骨は徐々に緻密骨へと置換され骨窩洞は新生骨でほぼ満たされていた。また、吸収性膜直下に位置する新生骨の部位では、吸収性膜由来のコラーゲン線維が新生骨表層の骨芽細胞層を貫通して骨基質へ取り込まれる像が観察された。これらの結果から、吸収性

膜のコラーゲン線維は骨芽細胞の基質合成、沈着の足場としても機能することが推測された。

以上より、コラーゲン性生体吸収性膜は骨原生細胞から骨芽細胞への分化促進に関与し、さらに、骨芽細胞の

基質合成、沈着の足場としても機能することで、新生骨の形成ならびに維持機構に積極的な役割を担っている可能性が示唆された。

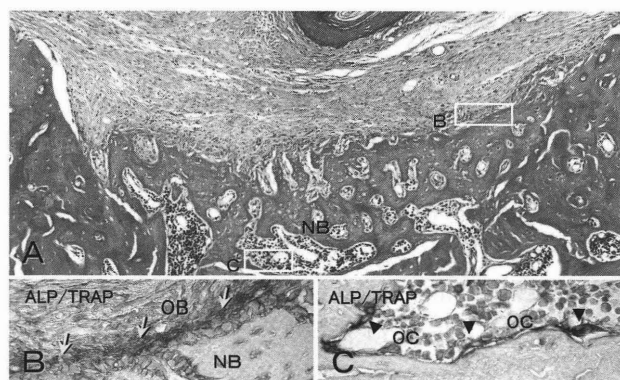


図1

術後2週 コントロール群 A：窩洞全体のH-E染色像 窩洞底部より新生骨の形成が認められるが、既存骨の高さには達していない。 B, C：図A枠内のALP-TRAP二重染色拡大像 新生骨表面には多数のALP強陽性を示す骨芽細胞（矢印）が局在し、新生骨内部にはTRAP陽性破骨細胞（矢頭）も散在性に認められる。 NB：新生骨 OB：骨芽細胞 OC：破骨細胞

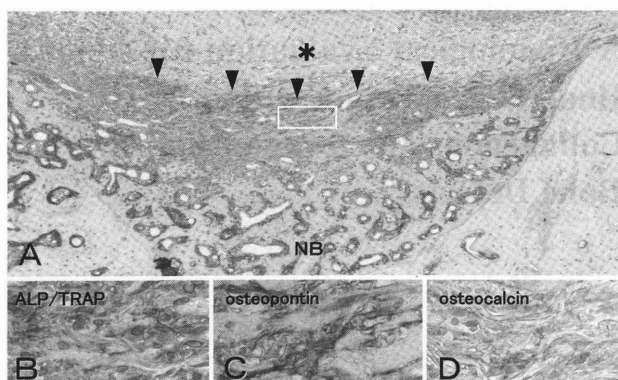


図2

術後2週 GBR群 A：窩洞全体のALP-TRAP二重染色像 ALP陽性反応が新生骨表面だけでなく、コラーゲン膜直下の部位（矢頭）にも認められる。 B：図A枠内のALP-TRAP二重染色拡大像 コラーゲン膜周囲および膜コラーゲン線維間の細胞が強いALP免疫陽性を示している。 C, D：図A枠内のOPN (C), OCN (D) 免疫染色拡大像 ALP免疫陽性反応と同様に、骨基質蛋白のOPN, OCN免疫陽性反応が新生骨骨基質のみならずコラーゲン膜周囲の細胞および基質に認められる。 NB：新生骨 \*：コラーゲン膜

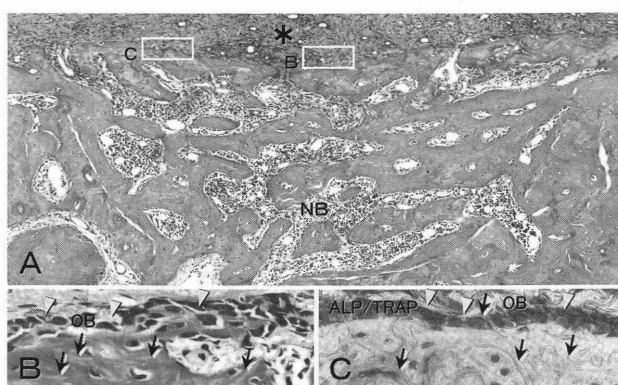


図3

術後4週 GBR群 A：窩洞全体のH-E染色像 緻密化した新生骨はコラーゲン膜直下の高さまで達し、骨窩洞は新生骨により満たされている。 B：図A枠内のH-E染色拡大像, C：図A枠内のALP-TRAP二重染色拡大像 コラーゲン膜直下の新生骨表面では骨芽細胞（矢頭）が存在するだけでなくコラーゲン膜を構成するコラーゲン線維（矢印）が骨基質内に取り込まれている。 NB：新生骨 OB：骨芽細胞 \*：コラーゲン膜