

論文名 : The Effect of Collagen Cross-links Deficiency on the Incorporation of Grafted Bone

(要約)

新潟大学大学院医歯学総合研究科

氏名 ムバラク オスマン マハジュブ スリマン

背景と目的)

インプラント治療の成功は埋入部位の骨の条件に大きく左右される。時に埋入部位の骨量を増加させるために骨増生術が必要になるが、現在骨増生のゴールドスタンダードは自家骨移植である。その際、移植骨を採取する部位は様々であるが、移植骨の骨質が骨増生の結果にどのように影響しているかはよく分かっていない。つまり、移植された骨が移植後にどのような運命をたどるかは、移植骨自体の骨質に影響されるのか、移植される部位の骨質に影響されるのかは解明されていない。骨質は骨密度と共に骨強度を決める要素のひとつであるが、骨質の指標の一つにコラーゲンクロスリンクがある。コラーゲンタイプ I は骨の有機成分の約 9 割を占めており、コラーゲン分子間をつなぐコラーゲンクロスリンクは骨の機械的強度、コラーゲン線維の構造、アパタイト結晶の沈着の起点として重要な役割を担っており、コラーゲンクロスリンク量の低下は骨質の低下を引き起こすと考えられている。本研究の目的は、骨のコラーゲンクロスリンク量減少が移植骨の定着にどのように影響するか、また移植骨の定着にはドナー側とレシピエント側のどちらの骨質か影響を及ぼすかを、ラットによる動物実験を通して組織学的に検証することである。

(方法)

4 週齢 Wester 系雄性ラット (n=54) を対照群と実験群にランダムに分け、さらにそれぞれをドナー側とレシピエント側の 2 群に分けた。実験群には、ラット生体内でコラーゲンクロスリンク量を減少させるために、飲料水中に 0.2% の Beta Aminopropionitrile (BAPN) を加えて 4 週間与えた。BAPN は Lysyl Oxidase (LOX) 酵素を阻害し、コラーゲンクロスリンク形成を妨げると言われている。対照群のラットには実験期間を通じて通常の水を与えた。ドナーであるラットの頭蓋骨中央に切開を行い、骨表面を露出した後に注水下にて直径 5 mm のトレフィンバーにて窩洞を左右 2 か所形成し、移植骨を採取した。レシピエントであるラットは同じく頭蓋骨中央に切開を行い、骨表面を露出した後に注水下にて直径 5 mm のトレフィンバーにて窩洞を形成した後に、ドナーから移植骨を移植した。骨移植後 1, 2, 4 週後にラットを安楽死させ、処置をした頭蓋骨を摘出し、通法に従って脱灰薄切標本を作製した。パラフィン切片は薄切後、H-E 染色、Picrosirius red 染色、Tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) 染色、TdT-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) 染色を施し、偏光顕微鏡または光学顕微鏡下に観察した。また、免疫組織化学的検索では Sclerostin 抗体を用い、光学顕微鏡下に観察した。組織形態計測も同時に行った。

結果と考察)

コラーゲンクロスリンク量を低下させた移植骨は対照群と比較して未成熟なコラーゲンが認められ、かつその構造は乱れていた。このことからラットへの BAPN 投与はその骨質を低下させていたことが示された。

骨移植の実験においては対照群、実験群共に移植骨と母骨の間には新生骨が認められた。しかしながら実験群の方が対照群に比べ、移植骨の骨質にかかわらず、手術後早い時期から骨形成が認められた。手術 4 週間後には対照群の切片の 75% に移植骨と母骨との完全な結合が認められ、実験群では観察したすべての切片で完全な移植骨と母骨の結合が認められた。これは、移植骨と母骨との間の骨形成はレシピエントの骨質に影響される可能性が高く、骨基質内のコラーゲンクロスリンク量の低下は骨形成を促進する可能性が高いことを示している。今回の実験期間においては移植骨の厚みや移植骨組織内の骨細胞のアポトーシスに変化はなかった。また、移植骨表層の骨膜形成層では実験群の方が対照群に比べ、術後 1 週間後において高い細胞活性が認められた。しかしながら、コラーゲンクロスリンク量の減少が骨形成を活性化させるメカニズムやそこに形成された新生骨の骨質が、リモデリングによって長期的にどのように変化するかは不明のため、今後詳細に解明していく必要がある。また、本実験結果では手術後 4 週目までにおいて、対照群と実験群とで新生骨に組織学的な差は認められなかったが、骨移植後、の移植骨が長期的にどのような運命をたどるかはさらに詳しく調べる必要がある。

頭蓋骨に骨欠損を形成した実験では、実験群において対照群と比べて実験期間を通して骨形成量が多く、特に術後 1 週間後には有意差が認められた。このことから移植骨の定着にはレシピエント側の骨質がより大きく影響する可能性があり、その理由として骨形成関連の細胞が活性化しているか、もしくは細胞数が多くなっていることが原因であると考えられる。予知性の高い骨移植やその後のインプラントの長期予後のためにも更なる研究が望まれる。

(結論)

骨基質のコラーゲンクロスリンク量の低下は *in vivo* において移植骨と母骨との間に骨形成を促進する可能性がある事が示された。また、移植骨の定着には主にレシピエント側の骨質が影響する可能性が高いことが示された。