

ふりがな よしだ けいこ
氏 名 吉田 恵子
学 位 博 士 (歯学)
学 位 記 番 号 新大院博 (歯) 第 86 号
学位授与の日付 平成19年3月22日
学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当
博 士 論 文 名 骨基質への温熱刺激が骨形成に与える影響

論文審査委員 主査 教授 魚島 勝美
副査 教授 前田 健康
教授 野村 修一

博士論文の要旨

【目的】

近年デンタルインプラントの成功率は非常に高く、一定の表面性状を有する純チタン製インプラントであればその失敗は数%から10%程度であるとの報告が多い。しかしながら原因がはっきりしない失敗が起こりうることも事実で、今後インプラントの信頼性をより向上させるためにはその原因を特定することは重要である。

エリクソンらによれば、骨切削時の過熱がインプラント失敗の一因で、その閾値は47℃であると言われている。これに対して、臨床的には骨切削時の過熱が原因と思われるインプラント周囲の一時的なエックス線透過像や痛みの出現は最終的にはオッセオインテグレーションを阻害しないとの経験から、骨への47℃程度の短時間の加熱が本当にオッセオインテグレーションを阻害する直接的原因となるのかという疑問が生じる。

一方、過熱による骨形成阻害が起こるとしても、そのメカニズムの詳細、すなわち骨基質の変化が骨形成を阻害するのか、周囲軟組織の変化が骨形成を阻害する原因となるのかは解明されていない。そこで熱刺激がラット骨組織に与える影響を経時的、組織学的かつ詳細に観察した。

【材料と方法】

12週齢雄性Wistar系ラット頭蓋骨を露出し、骨膜は完全に排除した。その後、骨表面に37℃、43℃、45℃、48℃に設定した直径5mmのtemperature stimulatorの先端を接触させ、15分間一定温度で加熱した。加熱処置後1週、3週、5週経過時点で同部位を摘出し、4%パラホルムアルデヒド溶液を用いた灌流固定の後、通法に従って同部位の前頭断パラフィン切片を作製した。これに対してH-E染色、アルカリフォスファターゼ (ALP)、オステオポンチン (OPN)、HSP27、HSP70免疫染色、酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ (TRAP) 染色およびTUNEL染色を施して光学顕微鏡下にて観察した。また、H-E染色を施した標本にて骨細胞消滅領域の面積を計測し、分散分析を行った。なお、使用したラットは実験条件ごとに10匹ずつ、合計120匹である。

【結果と考察】

加熱部位周辺組織の炎症反応や細胞の明らかな壊死は、どの実験群においても認められなかった。37℃刺激群でも骨表層の骨細胞はある程度消滅していたが、この層の厚みは刺激温度の上昇に伴って厚くなっていた。37℃刺激群では、術後1週で中央縫合部より連続する比較的厚い骨膜が広範囲に再生していたが、刺激温度の上昇と共にその範囲は狭くなっていた。実験部位の骨表面における3週間後の骨形成量は温度が高くなるにつれて減少していたが、48℃刺激群においても5週間後になると新生骨形成が若干観察された。37℃刺激群では早期より縫合部付近でTRAP陽性破骨細胞、ALP陽性骨芽細胞が観察されたが、その他の実験群では刺激温度の上昇と共にこれら陽性細胞の数は少なくなり、出現の時期も遅くなっていた。さらに、37℃刺激群では、アポトーシス陽性の細胞は既存骨内および縫合部にはほとんど見られず、再生した骨膜にも、正常組織と同程度のアポトーシス陽性細胞が見られるのみであった。48℃刺激群では既存骨の一部にアポトーシス陽性細胞が観察されたが、縫合部や再生骨膜にはアポトーシス陽性細胞はほとんど観察されなかった。37℃刺激群では骨膜の線維層にまばらにHSP27およびHSP70陽性細胞が観察されたが、48℃刺激群では、ほぼ全域に亘って陽性細胞の割合が増加していた。以上のことから、48℃熱刺激では、骨表面の骨形成は最終的に阻害されない可能性があること、また刺激部位の骨細胞消失がその表面における骨形成過程を直接阻害しているわけではなく、骨膜の再生遅延を介して骨形成が遅延する可能性が示唆された。つまり骨形成に向かう軟組織の条件に問題が無ければ、骨基質自体へのある程度の傷害はその表面での骨形成を最終的に阻害しないと考えられる。

ただし、骨への一定の傷害が加わった状況では、その表面での骨形成が遅延することは事実であり、デンタルインプラントの適用に際してその成功率を上げるためには、荷重までの期間を長くするなど配慮が必要である。

今後は、熱刺激に対する骨形成に関連する軟組織の挙動を検索するとともに、骨形成の促進も含めた熱の骨組織に対する影響について検索する必要がある。

審査結果の要旨

純チタンの表面に対して一定の加工を施すことにより、デンタルインプラントの成功率は近年飛躍的に高くなっている。しかしながら、一方では数%程度の失敗があることも事実で、これら失敗の原因は不明であることが多い。今後、インプラントの信頼性をより高めるためには、これらの原因を追究することが重要である。

従来、インプラント窩洞形成時の骨への過熱はその失敗の一因になり得るとされ、47℃が境界であるとされてきた。しかしながら、臨床的には骨への過熱が原因と思われる術後の疼痛やインプラント周囲のエックス線透過像が出現しても、一定期間安静にすることによって、最終的にはインプラントの失敗には繋がらないことを経験している。つまり、一定の熱による骨への刺激は最終的なインプラント失敗の直接的原因ではない可能性が示唆されている。

そこで、本研究は熱刺激がラット骨組織に与える影響を経時的、組織学的かつ詳細に観察している。12週齢雄性Wistar系ラット合計120匹を用い、その頭蓋骨を露出して、骨膜を完全に排除した骨表面に37℃、43℃、45℃、48℃に設定した直径5mmのtemperature stimulatorの先端を接触させ、15分間一定温度で加熱している。加熱処置後1週、3週、5週経過時点で同部位を摘出し、4%パラホルムアルデヒド溶液を用いた灌流固定の後、通法に従って同部位の前頭断パラフィン切片を作製している。これらに対してH-E染色、アルカリフォスファターゼ (ALP)、オステオポンチン (OPN)、HSP27、HSP70免疫染色、酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ (TRAP) 染色およびTUNEL染色を施して光学顕微鏡下にて観察し、H-E染色を施した標本にて骨細胞消滅領域の面積を計測し、分散分析を行っている。

加熱部位周辺組織の炎症反応や細胞の明らかな壊死は、どの実験群においても認められなかった。37℃刺激群でも骨表層の骨細胞はある程度消滅していたが、この層の厚みは刺激温度の上昇に伴って厚くなっていた。37℃刺激群では、術後1週で中央縫合部より連続する比較的厚い骨膜が広範囲に再生していたが、刺激温度の上昇と共にその範囲は狭くなっていた。実験部位の骨表面における3週間後の骨形成量は温度が高くなるにつれて減少していたが、48℃刺激群においても5週間後になると新生骨形成が若干観察された。37℃刺激群では早期より縫合部付近でTRAP陽性破骨細胞、ALP陽性骨芽細胞が観察されたが、その他の実験群では刺激温度の上昇と共にこれら陽性細胞の数は少なくなり、出現の時期も遅くなっていた。さらに、37℃刺激群では、アポトーシス陽性の細胞は既存骨内および縫合部にはほとんど見られず、再生した骨膜にも、正常組織と同程度のアポトーシス陽性細胞が見られるのみであった。48℃刺激群では既存骨の一部にアポトーシス陽性細胞が観察されたが、縫合部や再生骨膜にはアポトーシス陽性細胞はほとんど観察されなかった。37℃刺激群では骨膜の線維層にまばらにHSP27およびHSP70陽性細胞が観察されたが、48℃刺激群では、ほぼ全域に亘って陽性細胞の割合が増加していた。以上のことから、48℃熱刺激では、骨表面の骨形成は最終的に阻害されない可能性があること、また刺激部位の骨細胞消失がその表面における骨形成過程を直接阻害しているわけではなく、骨膜の再生遅延を介して骨形成が遅延する可能性が示唆された。つまり骨形成に向かう軟組織の条件に問題が無ければ、骨基質自体へのある程度の傷害はその表面での骨形成を最終的に阻害しないと考えられる。

以上のように、本研究は軟組織の関与を排除し、骨基質そのものへの熱刺激の影響を検索している。このことにより、骨基質への48℃程度の熱刺激は、その表面での骨形成を遅延させるものの、最終的な骨形成は阻害しないことを示した。つまり、インプラント窩洞形成時の骨への一定範囲内での過熱は、最終的にインプラントの直接的な失敗には繋がらない可能性を示し、治癒期間を長く確保することの必要性と重要性を示した点で本論文の学位論文としての価値を認める。