

ふりがな ミル ノアジェシュ アリ
氏 名 Mir nowazesh ALI
学 位 博 士 (歯学)
学位記番号 新大院博 (歯) 甲第 95 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 A histological study of the cellular events during mandibular distraction
osteogenesis of rat
(ラット下顎骨骨延長に関する細胞組織学的研究)

論文審査委員 主査 教授 齊藤 力
副査 教授 高木 律男
教授 大島 勇人

博士論文の要旨

【緒言】骨延長術は骨移植を必要としない長管骨仮骨延長術として開発され、整形外科領域において治療法として確立されたものである。顎顔面領域では 1992 年に McCarthy らが下顎骨の骨延長に応用して以来、この 15 年間に手技の普及や様々な装置の開発が行われ急速に進歩した。本法は下顎骨骨体部を延長することによって、口腔癌の顎再建等にも骨移植せずに骨を増やすことができるという優れた特徴を有する反面、装置装着期間が長期間に及ぶなどの欠点も指摘されている。従って、骨再生期間の短縮など本法の改善を目指す試みも行われつつある。しかしながら、軟骨内骨化により形成される長管骨とは異なり、膜性骨である下顎骨の骨延長時に生じる骨再生過程の詳細なメカニズムはまだ十分に解明されているとは言えない。本研究は、下顎骨骨延長術の骨形成促進を目指した将来的な臨床研究の基礎として、ラット下顎骨骨延長における下顎骨下縁の骨再生過程に注目し、その詳細な細胞組織学的知見を明らかにする事を試みたものである。

【材料と方法】実験には 40 匹の 12 週齢 (体重 320-390g) Wistar 系雄性ラットを用いた。下顎骨延長装置は、チタンスクリー 4 本と矯正用エクステンションプレートならびに歯科用即時重合レジンを用いて作製した。ラットを麻酔し、右側下顎骨の第 2 臼歯と第 3 臼歯間に骨切り部を設定して骨切り部を挟んで両側に直径 1.2mm 長さ 12mm のチタンスクリーを 2 本ずつ計 4 本埋入した。これらスクリーと骨延長装置を歯科用即時重合レジンにて固定した。ついでダイヤモンドディスクを用いて、骨切り部の皮質骨全周に渡る骨切りを行い、人工的に下顎骨を骨折させ、骨延長装置の拡大によって骨が離開する事を確認した後、骨延長装置を延長前の状態に戻して縫合した。5 日間の待機期間の後、12 時間毎に 0.2mm の骨延長を 10 日間 (計 4mm) 行った。動物は各群 5 匹ずつに分け、5 日間の待機終了後 (L5D)、延長開始 3 日後 (D3D)、延長開始 6 日後 (D6D)、延長開始 10 日後 (D10D)、延長終了 1 週間後 (C1W)、延長終了 3 週間後 (C3W)、延長終了 6 週間後 (C6W)、延長終了 10 週間後 (C10W) に麻酔を施した後、緩衝 4 % paraform aldehyde を用いて灌流固定した。固定後、骨延長装置を付けたまま下顎骨を取り出し μ CT にて撮影した。EDTA 脱灰した試料は、パラフィン包埋し薄切した後、HE 染色、あるいは酒石酸抵抗性酸ホスファ

ターゼ (TRAP) 染色、ALPase および Type II collagen 免疫染色を施して顕微鏡観察を行った。

【結果と考察】(μ CT 所見) L5D 群で認められた骨切り線は骨延長に伴い D3D、D6D、D10D と間隙が徐々に拡大した。C1W から C3W にかけて間隙部に新生骨領域を示す X 線不透過像が認められ、C6W、C10W において間隙部は新生骨によって埋められていた。(組織学的所見) L5D 群では骨膜に反応性の骨新生が認められたが、骨切り端近傍では、炎症性細胞浸潤を伴う線維性組織が認められるのみであった。D3D の間隙部では、牽引力の方向に沿って走る膠原線維束が認められたが、ALPase 免疫陽性部位は認められなかった。D6D では間隙部の間葉系細胞と膠原線維の増加が認められると共に、骨切り端から間隙部の線維性組織の中へ ALPase 免疫反応陽性の骨新生部位が伸長しており、典型的な膜性骨化の様式が認められた。D10D では骨切り端から間隙部の線維性組織の中へ伸長する ALPase 免疫反応陽性の骨新生部位は拡大伸長し骨梁が形成されていた。C1W では間隙部の骨梁形成はさらに伸長していたが、間隙の中央部は密な線維性組織で占められており、ALPase 免疫反応陰性で血管からやや離れた領域中に Type II collagen 免疫反応陽性基質に囲まれた線維軟骨細胞が認められた。C3W では Type II collagen 免疫陽性軟骨組織は拡大しており、周辺部は線維軟骨様を、中央部は硝子軟骨様を呈していた。軟骨組織への血管進入部位には TRAP 陽性の破骨細胞が局在すると共に、それに連続する ALPase 免疫反応陽性の骨芽細胞群が認められ、軟骨内骨化が生じている事が示された。C6W の間隙部は新生骨で癒合しており、C1W や C3W で認められた骨梁は皮質骨へと骨改造されていた。C10W では間隙部の新生皮質骨はさらに厚くなり層板骨様を呈していた。興味深い事に、C6W、C10W の皮質骨中に、Type II collagen 免疫陽性の軟骨基質が残存している事が示された。以上の所見から、下顎骨は膜性骨であるにもかかわらず、骨延長時の骨再生過程では、膜性骨化のみならず軟骨内骨化による骨新生が生じている事が明らかとなった。また牽引力の負荷が掛からなくなった延長終了 1 週間後(C1W) に、間隙中央部における密な線維性組織中の血管からやや離れた領域に軟骨細胞が出現した事から、軟骨細胞の分化には牽引力の減少と基質の量や酸素分圧の影響が関与している可能性が示唆された。本研究が明らかにしたラット下顎骨骨延長時に生じる骨再生過程の詳細な細胞学的知見は、骨再生期間の短縮など下顎骨骨延長術の改善を目的とした臨床研究の為の基礎的基盤を形成するものと考えられる。

審査結果の要旨

下顎骨延長術は、骨そのものを延長して形態を整えるほかに、付随する軟部組織を拡張する効果があり、顔面半側萎縮症や小下顎症における下顎骨延長以外にも、口腔癌の再建顎の再形成等に応用可能な画期的な方法である。しかしながら、骨形成までの治療期間が長期に及ぶという欠点を持つことから、臨床においても本治療に対する骨形成促進法の開発が期待されている。

近年、動物実験モデルを用いた下顎骨延長術における組織学的研究は多く行われてきたが、 μ CT を用いた骨梁構造の立体的な観察や下顎骨延長の初期段階における骨形成過程の免疫組織学的観察を詳細に行った研究は少ない。本研究では、下顎骨延長時の骨形成過程において膜性骨化とともに軟骨内骨化による骨新生が生じており、軟骨細胞の分化に牽引力の減少と基質の量や酸素分圧の影響が関与している可能性が示唆されるなど、興味深い知見が示されている。

本審査では、ラットを用いた下顎骨延長実験モデルの利点、実験プロトコルの決定理由、 μ CT を用いて骨梁構造を観察する上での工夫と有用性、骨延長法における分子生物学的機構について、なぜ膜性骨である下顎骨の骨延長時に膜性骨化のみならず軟骨内

骨化による骨新生が生じるのか、軟骨組織はどのように骨組織に置換するのか、骨延長法における骨形成促進にはどのような方法が考えられるかなどについて質問を行ったが、いずれも妥当な回答を得た。また、この研究で示された実験モデルは下顎骨延長術について研究する上で有用であると考えられ、価値あるものと認めた。今後、本実験モデルを用いて下顎骨延長術に対する骨形成促進法に関する研究を行う計画であることから、更なる研究成果を期待する。