

ふりがな こじま たく
氏 名 小島 拓
学 位 博 士 (歯学)
学 位 記 番 号 新大院博 (歯) 第 99 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 Histological examinations on the bone regeneration achieved by combining grafting with hydroxyapatite and thermoplastic bioresorbable plates
(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)

論文審査委員 主査 教授 網塚憲生
副査 教授 齊藤 力
教授 前田健康

博士論文の要旨

歯科領域における骨欠損部治療では、自家骨や人工材料の移植に加えて、欠損部を膜で被覆して封鎖することで周囲軟組織の侵入を阻止し、膜の外形に沿った骨新生を誘導する骨再生誘導術(guided bone regeneration: GBR)が行われている。骨再生誘導術を成功させるには、膜が生体親和性を有することが重要であり、範囲の小さな欠損部では良好な臨床成績を得ている。しかしながら、顎顔面領域のような複雑かつ扁平骨で構成される部位、あるいは広範囲にわたる骨欠損の治療には、従来の膜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として応用し、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するとともに、そこに形成される新生骨を組織学的・微細構造学的に検索した。また、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の観察、さらに石灰化ミネラルの局在を明らかにするために元素マッピングを行った。

実験方法としては、生後12週齢雄性Wistar系ラットの頭蓋骨中央部に直径5mmの骨窩洞を形成した。その後、hydroxyapatite顆粒とatelocollagenを含む骨補填材(Boneject®)を既存骨の高さ以上に充填して、予め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週に同部位をアルデヒド固定後、通法にてパラフィンおよびエポキシ樹脂包埋した。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。

術後1週において、骨膜からの線維芽細胞や炎症細胞の侵入は観察されず、窩洞内には底部の既存骨から窩洞上方に向かってALP/TRAP陰性の細胞群が侵入していた。また、hydroxyapatite顆粒 (Boneject®) は窩洞内に均一に充填されており、細胞が遊走した周囲のhydroxyapatite顆粒表層には強いOPN陽性反応が観察された。新生骨は、窩洞底部に存在する既存骨から連続して形成されており、多数のALP陽性骨芽細胞が局在していた。一方、hydroxyapatite顆粒表面にはTRAP陽性破骨細胞が局在していた。術後2週では、ドーム状のプレート付近にまでALP/TRAP陰性の細胞群が遊走し、窩洞全域のhydroxyapatite顆粒表層にOPN陽性反応を認めた。hydroxyapatite顆粒表面では、破骨細胞が定着・移動したと考えられるTRAP陽性部位に骨芽細胞が局在し、その直下には新生骨が観察された。従って、hydroxyapatite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と骨形成が誘導される“カップリング”現象が推測された。一方、新生骨にも骨リモデリング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新生骨が形成されていたことから骨増生が可能であることが明らかにされた。また、新生骨とプレートの間には骨外膜のマーカであるperiostin陽性を示す骨膜様組織が形成されていた。この時期の新生骨には多くのセメントラインが認められたが、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分布も既存骨よりも低値を示したことから、まだ緻密骨に達していないことが示唆された。術後8週、12週では、骨増生を維持しながらも、ALP骨芽細胞とTRAP破骨細胞の数が減少していることから、緩徐な骨リモデリングが推測された。また新生骨の表面には明瞭なperiostin陽性骨膜様組織が形成されており、その直下には層板状の緻密骨が観察された。一方で、窩洞内部の新生骨も経時的に骨梁幅を増加させるとともに、緻密なコラーゲン線維、ならびに高濃度のCa, Pが検出されたことから、新生骨の緻密化が確認された。

以上、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、経時的に緻密骨化したことは、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が骨増生を考慮した骨再生を可能にすると判断された。細胞学的メカニズムとして、正常な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。

審査結果の要旨

本研究は、強度および熱可塑性を有する生体親和性ポリ乳酸プレートと、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することで、顎顔面領域のような複雑かつ扁平骨で構成される部位、あるいは広範囲にわたる骨欠損の臨床的治療を念頭に置いたモデル実験を行っている。本研究において、ポリ乳酸プレートおよびハイドロキシアパタイト補填剤の併用が骨増生を誘導し、緻密骨形成に都合の良い材料であることを示しているばかりでなく、骨質を考慮した緻密骨化、ならびに骨の細胞の遊走、定着、そして骨形成あるいは骨吸収、さらにその後の骨リモデリングについて詳細に検討を行っている点に本研究の重要性を見いだすことができる。

本研究では、一連の細胞動向が明確に示されており、申請者は炎症細胞および線維芽細胞の侵入が無いこと、また、骨窩洞底部から 1)ALP/TRAP 陰性細胞群、2)TRAP 陽性破骨細胞、3)ALP 陽性骨芽細胞の順で骨窩洞上方に向かって遊走することを観察している。ここで重要な点として、ALP/TRAP 陰性細胞群が hydroxyapatite 顆粒に osteopontin (OPN)を付着させる可能性があること、次に、破骨細胞は OPN が付着した hydroxyapatite 顆粒に速やかに遊走・定着し、あたかも骨基質を吸収するように移動すること、その後、骨芽細胞がそこに遊走、定着し、骨形成を行ってゆくと言った、破骨細胞と骨芽細胞のカップリングを経時的、部位的に明らかにしていることがあげられる。過去の文献にもあるように、骨芽細胞の著しい増殖を伴って急速に形成された骨は幼弱な線維性骨であり、経時的に吸収されてしまうこと、また骨質の観点からも良好な骨とは言えないことが述べられている。これに対して、本実験方法では、プレートにより強度を維持しながら、hydroxyapatite を足場として介在させた骨リモデリングが誘導され、徐々に新生骨が形成されることで緻密な骨増生を可能にすることができた。また、骨膜はその直下の皮質骨の形状、特に、厚さ幅の維持に関与するとされており、今回の観察で periostin 陽性の骨膜様組織が形成されたことも興味深い。periostin の正確な機能は未だに不明であるが、メカニカルストレスに感応する蛋白である可能性が推測されていることから、今回の実験で形成された periostin 陽性骨膜様組織は実際の骨膜のように外部からの刺激を感知できる可能性も考えられる。さらに、骨基質の評価として、透過型電子顕微鏡、EPMA を用いて、コラーゲン線維の走行ならびに Ca, P content を計測している。これらの手法は光学顕微鏡では得られない微細構造や各元素マッピングを可能とし、新生骨の構造学的評価として十分な結果を与えていると判断された。

以上、本研究は生体親和性ポリ乳酸プレートと骨伝導能を有するハイドロキシアパタイトを併用することで、顎顔面領域における複雑かつ広範囲にわたる骨欠損治療を念頭に置いたモデル実験を作製し、良好な緻密骨形成、および、その際に認められる細胞学的・微細構造学的機序を明らかにしており、学位論文としての価値を認める。