

学位論文内容の要旨

愛知学院大学

論文提出者

伊東 雅哲

論文題目

ラット口蓋裂を用いたヒト顎裂部骨再建のための
骨再生評価

I. 緒言

顎裂は、胎生8～10週の間、内側鼻突起と上顎突起の癒合不全によって生じる。顎裂は、一次口蓋部の骨欠損であり、歯の萌出障害、歯列不正をはじめとする機能障害の原因となることが知られている。したがって上顎歯列弓の連続性と安定性を確保し、歯の萌出誘導のため、顎裂部骨欠損への骨再建は必須である。従来、顎裂部骨欠損への骨再建は、自家骨移植術が主な治療法として行なわれてきた。自家骨移植術に用いる骨は、下顎骨、腸骨および脛骨から採取することが一般的であり、小児にとって採取部位への侵襲は大きいことから、二次的な侵襲を軽減するための治療法の開発は急務である。現在、代替療法として人工材料の移植治療が注目されている。したがって、人工材料による顎裂部骨欠損への骨再生能を評価するためには、適切な動物実験モデルが必要不可欠である。これまでの骨再生の研究に用いられている動物実験モデルは、頭蓋骨などの骨内面に欠損を作成することから、骨欠損の周囲は骨面であり、自然治癒しやすい環境にある。したがって、人工的に作成された骨欠損は、先天性骨欠損である顎裂とは、発生学的および解剖学的に類似していない。現在まで、顎裂部骨再建に用いるための人工材料を評価するにあたり、先天性骨欠損を用いた再現性がある動物実験方法は、確立されていない。本研究では、ラットの先天性骨欠損部（先行報告に従って以下口蓋裂）をヒトの顎裂部骨欠損と想定し、同部を用いた新たな動物実験モデルを確立した。ラットの口蓋

裂は、口蓋中央部に存在する先天性骨空洞であり、鼻中隔によって、左右に隔てられている。ラットの口蓋裂は、口腔、鼻腔に近接しており、ヒトの顎裂部骨欠損に解剖学的に類似する先天性骨欠損とみなすことができると考えた。本研究では、ラットの口蓋裂は、移植材料の骨再生能を評価するための移植部位として適切か否かを確認するため、同部に自家骨と β -TCPを移植し、骨再生能の評価を行った。

II. 材料および方法

本研究は、体重 350~400 g の 11 週齢、雄性 Sprague-Dawley ラット 20 匹を使用して行った。ラットをそれぞれ 5 匹ずつ、無作為に次に示す 3 つのグループに分けた。グループ 1 は自家骨移植群、グループ 2 は β -TCP 移植群、グループ 3 は、移植部位のみを作成し、未移植群とした。骨再生の評価は、放射線学的評価および組織学的評価にて行った。

放射線学的評価は、移植前および移植後 4、8、12、16 週にて、マイクロ CT (Cosmo Scan GX; Rigaku Corporation, Tokyo) 撮影し、骨体積および骨密度 (BMD) は、骨測定ソフトウェア 3 by 4 ビューアー 2011 (北千住ラジスト歯科 i-VIEW 画像センター、東京) で測定し、解析した。

組織学的評価は、手術後 16 週でラットを屠殺し、ヘマトキシリン・エオジン (H&E)、アルカリホスファターゼ (ALP) および酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ (TRAP) で染色をし、組織像を観察した。また、グループ 1

のラット5匹とは別に、ラット5匹に自家骨移植を行い、移植後12週で屠殺し、同様の組織学的評価を行った。

統計分析は、Excel 統計ファイルソフトウェア (ystat2008.xls; 医学書房、東京) を用いて行った。各グループ内の測定値には標準偏差 (SD) を用いた。各グループ間の比較は、Tukey-Kramer post-hoc test にて統計分析を行い、 $p < 0.05$ は統計学的に有意差があるとした。

III. 結果

1). 放射線学的所見

グループ1のすべての個体において、移植後4週のマイクロCT撮影画像にて、左側口蓋裂内に新生硬組織像を認めた。新生硬組織像の生じる部位は、個体によって異なっていた。

グループ1、2および3の移植後16週のマイクロCT撮影画像を確認したところ、グループ1では、すべての個体で左側口蓋裂内に bone bridge を認めた。グループ2では、左側口蓋裂内側面の骨辺縁に沿って硬組織像を認めた。グループ3では、すべての個体において、左側口蓋裂内に硬組織像を認めなかった。

2). 放射線学的解析

自家骨移植後の経過を評価するため、グループ1において、手術後4、8、12および16週の左側口蓋裂内の骨体積と骨密度を算出した。グループ

1では、骨体積は移植後4週から8週にかけて減少したが、移植後12週から16週にかけて増加した。また、自家骨移植と β -TCP移植の硬組織形成における違いを評価するため、移植後16週の骨体積と骨密度を算出し、比較した。グループ1はグループ2に対して、骨体積と骨密度共に有意に高い結果となった。また、術後16週におけるラット母骨の骨密度とグループ1の新生骨骨密度との間に有意差を認めなかった。

3). 組織学的評価

グループ1における、移植後12週の組織像にて、自家骨周囲に新生骨を認めた。移植後16週では、グループ1および2のすべての個体に新生骨を確認し、母骨と新生骨は連続していた。新生骨表面には、ALPで染色された骨芽細胞とTRAPで染色された破骨細胞を認めた。

また、手術前および手術後16週のグループ3における口蓋裂内側面を確認したところ、手術前では、口蓋裂内側面を覆う上皮は、多列絨毛上皮の構造を呈したが、手術後16週では、重層扁平上皮へと変化した。この変化はグループ1および2においても確認された。

IV. 考察

口唇口蓋裂関連の手術の困難な課題の一つは、顎裂部骨欠損の骨再建である。現在主要となる治療法は下顎骨、腸骨および脛骨から自家骨を採取し、顎裂部へ移植する自家骨移植術だが、採取部位への疼痛、一時的な歩

行困難、入院期間の延長などといった欠点を有する。自家骨移植に際しての採取部位への侵襲や、これに伴う合併症を軽減するため、顎裂部骨欠損の骨再建を担う移植材料の開発は急務である。本研究では、ヒトの顎裂部骨欠損への人工材料の移植を想定し、ヒトの顎裂部骨欠損に解剖学的に近いラットの口蓋裂を用いた移植実験を行い、骨形成能を評価した。ヒトの顎裂部骨欠損へ移植することが可能な、新しい移植材料を研究する上で、よりヒトの顎裂部骨欠損に解剖学的に類似する動物実験モデルを作製することは、必要不可欠であると考え。一般的に、ラットの頭蓋骨および長管骨は、費用対効果の高い動物実験モデルとして、移植材料の骨再生研究に使用されてきた。今回、移植材料として自家骨と β -TCPを選択した。現在、自家骨移植術は顎裂部骨再建のゴールドスタンダードであり、インプラント治療では、骨欠損部への補填材料として β -TCPがすでに使用されてきた。しかし、ヒトの顎裂部骨欠損への β -TCP移植に関するエビデンスは十分に確立されていない。過去の研究では、自家骨移植と β -TCP移植は、骨欠損に対して、同等な骨再生能を示すとの報告がある。しかし、我々の研究では、移植後16週における、自家骨移植群の新生骨の体積および骨密度は、 β -TCP移植群のそれらと比較し、有意に高かった。この要因の一つとしては、他の研究時に用いられた移植部位との環境の違いにあると考える。歯槽骨や頭蓋骨といった既存の骨に、人工的に侵襲を加え、骨欠損部を作成する場合、自然治癒が生じる可能性がある。しかし、口蓋裂は先天

性骨欠損のため、その可能性はない。もう一つの要因としては、 β -TCP は骨伝導能のみを有するが、自家骨は、骨形成能、骨誘導能および骨伝導能を有していることである。既存骨の自然治癒という要因があれば、 β -TCP 移植は自家骨移植の骨形成程度と同等となるが、今回の研究では、既存骨の自然治癒という要因はないため、骨伝導能のみを有する β -TCP 移植よりも、より骨成長因子を含む自家骨移植の新生骨形成程度が、有意に高かったと考える。ラットの口蓋裂の解剖学的構造は、ヒトの顎裂部骨欠損に類似しているため、本研究での動物実験モデルは、顎裂部骨再建に用いることが可能な新しい移植材料を評価する上で、より適していると考えられる。

V. 結論

ラットの先天性骨空洞である口蓋裂を用いた新たな動物実験モデルは、移植部位を作成するにあたり、人工的な骨削除を必要とせず、解剖学的構造はヒトの顎裂部骨欠損と類似している。今回、この動物実験モデルを用いて移植実験を行った結果、骨新生の評価を行うことは可能であった。ラットの口蓋裂は、移植材料の骨再生能を評価するための移植部位として、適切であることが明らかとなった。この動物実験モデルを用い、顎裂部骨欠損にとって、より良い移植材料を開発していくことが、今後重要である。