

## 第55回 奥羽大学歯学会例会講演抄録

(平成25年6月15日)

## 一般講演

## 1) ラット頭蓋冠上の骨増大術モデルにおけるチタンキャップ内面のHA処理による新生骨誘導効果

○吉野 浩正, 高橋 慶壮

(奥羽大・大学院・歯内・歯周療法)

【目的】ラット頭蓋冠上の垂直的骨増大術モデルにおいて、チタンキャップ内面のサンドブラストおよびハイドロキシアパタイト (HA) 処理が骨新生に及ぼす効果を評価すること。

【材料および方法】10週令オスのSDラットを25匹使用した。3種類 (①機械研磨 (陰性対照), ②サンドブラスト処理, ③HA処理) の内面処理を施したチタンキャップを日本メディカルマテリアル株式会社 (JMM) と共同で試作して実験に供した。チタン合金 (Ti-6Al-4V; JMMの歯科インプラントと同じ材料) ブロックから0.5mmの肉厚のチタンキャップを削りだして試作した。全身および局所麻酔下でラット頭頂部に切開を加え、トレフィンバーを用いて直径6mm, 深さ0.5mmの溝を頭蓋骨の正中縫合線の左右側に1つずつ2か所に形成し、3種類のチタンキャップを無作為に設置後に骨膜と皮膚縫合を行った。8週間後にラットを安楽死させて脱灰標本を作製し、組織標本を作製してH-E染色, TRAP染色およびオステオカルシン (OCN) とオステオポンチン (OPN) の免疫染色を行った。また、キャップ内に形成された新生組織量および新生骨量をWinRoof (三谷商事) を用いて定量した。

【結果および考察】実験4週間後では十分な骨新生を認めなかったため、8週間後の骨新生の様態を比較・検討した。いずれの実験群でも新生組織には新生骨と骨髄組織および軟組織を認めた。HA処理群では、新生骨は頭蓋骨に平行に形成さ

れた層板状の新生骨とチタンキャップ内面に沿うように上方に形成され、完全な半円状になっていることが多かった。HA処理群では機械研磨群に比較して骨新生量が有意に高く ( $p<0.05$ ), 軟組織の割合は少ない傾向にあった。新生骨周辺には破骨細胞をほとんど認めなかった。いずれの実験群でもOCN陽性の骨芽細胞とOPN陽性の骨細胞および骨芽細胞を認めた。サンドブラスト処理だけでは有意な骨新生効果がみられなかったことから、HA処理により骨新生時に未分化間葉系細胞の骨芽細胞および骨細胞への分化が促進されたと考えられる。

2)  $\beta$ -リン酸三カルシウムがラット頭蓋冠上の垂直的骨増大に及ぼす効果

○森田 聡, 高橋 慶壮

(奥羽大・大学院・歯内・歯周療法)

【目的】ラット頭蓋冠上の垂直的骨増大術モデルにおいて、 $\beta$ -リン酸三カルシウム ( $\beta$ -TCP) および硫酸カルシウム ( $\text{CaSO}_4$ ) の骨新生効果を評価すること。

【材料および方法】10週令オスのSDラットを30匹使用した。① $\beta$ -TCP, ② $\text{CaSO}_4$ , ③ $\beta$ -TCP+ $\text{CaSO}_4$ を添入した3実験群と④ゼラチン添入群 (陰性対照) を無作為に決めた。全身および局所麻酔下でラット頭頂部に皮膚骨膜弁を作製し、各試料を加えたチタンキャップ (内面は機械研磨処理を行った。) を2個設置して縫合した。8週間後にラットを安楽死させて組織標本を作製し、H-E染色, TRAP染色および骨細胞に特異的に発現する骨関連タンパク質であるsclerostin (SOST) の免疫染色を行った。また、WinRoof (三谷商事) を用いて各実験群の新生組織量および骨新生量を定量した。

【結果および考察】 $\beta$ -TCP添加群では、 $\beta$ -TCP顆粒の周囲を新生骨が取り囲み、新生骨中に骨細胞

が観察された。 $\beta$ -TCPと新生骨との境界には骨芽細胞が観察された。新生骨周辺には破骨細胞はほとんど観察されなかった。 $\beta$ -TCP単独添加群で新生組織量に占める新生骨量の割合が最も高かった ( $p<0.05$ )。  $\beta$ -TCP添加群では他群と比較して骨髄組織の割合が低い傾向にあった。 $\beta$ -TCP+CaSO<sub>4</sub>の相加効果はみられなかった。CaSO<sub>4</sub>単独添加群の骨新生量は陰性対照のそれと同程度であった。骨細胞のSOSTの染色性は部位によって異なり、新生骨内方の骨細胞が強陽性であった。

$\beta$ -TCPは未分化間葉系細胞から骨芽細胞や脂肪細胞へと分化する過程で、骨芽細胞と骨細胞への分化を促進したと考えられる。新生組織中には $\beta$ -TCP顆粒が残存しており、 $\beta$ -TCP顆粒周辺で骨への置換が観察されたことを勘案すれば、 $\beta$ -TCP顆粒が完全に新生骨へ置換された時点で、 $\beta$ -TCP単独添加群で骨新生量が最も高くなると予測され、 $\beta$ -TCPはCaSO<sub>4</sub>に比較して垂直的骨増大を促進するための足場として優れていると考えられる。

### 3) ラット頭蓋冠上の垂直的骨増大モデルにおけるスタチンの効果

○石澤 正晃, 高橋 慶杜

(奥羽大・大学院・歯内・歯周療法)

【目的】ラット頭蓋冠上の垂直的骨増大術モデルにおいて低濃度のスタチンを徐放性に作用させた際の骨新生効果を評価すること。

【材料および方法】10週令オスのSDラットを30匹使用した。①徐放性担体 (MedGel®) のみ (陰性対照) とMedGel®にそれぞれ②シンバスタチン (0.5mg), ③プラバスタチン (0.5mg) あるいは④BMP-2 (陽性対照) (0.5 $\mu$ g) を含浸させ無作為に4実験群に分けた。全身および局所麻酔下でラット頭頂部に皮膚骨膜弁を作成し、各群のチタンキャップを2個づつ設置後に縫合した。8週間後にラットを安楽死させて組織標本を作製し、H-E染色, TRAP染色, PCNA (細胞増殖マーカー) およびED1 (抗マクロファージ抗体) を用いた免疫染色を行った。また、各実験群の新生組織量および骨新生量をWinRoof (三谷商事) を用いて定量した。

【結果および考察】いずれの実験群においても新生組織中には、新生骨と骨髄組織 (脂肪髄) を認め、軟組織を認めることもあった。本実験条件下では明らかな炎症所見は見られなかった。MedGel®を担体としたシンバスタチンおよびプラバスタチン添加群の骨新生効果は有意ではなかった。一方、rhBMP-2添加群は骨新生を有意に促進した ( $p<0.05$ )。骨髄組織中の細胞は活発に増殖していた。骨髄中にTRAP弱陽性の単核細胞が多数観察され、新生骨周辺にはTRAP強陽性の多核細胞が観察された。ED1陽性細胞は骨髄および軟組織中では単核細胞、一方、新生骨周辺では多核細胞の形態を呈していた。

骨髄組織に浸潤したマクロファージ系細胞が破骨細胞へと分化して新生骨の吸収に関与していると考えられ、新生組織における骨髄組織の割合と単核から多核マクロファージ系細胞への分化様態が骨新生量にも影響する可能性がある。新生組織中へのマクロファージ系細胞の遊走と破骨細胞への分化を抑制することにより、垂直的な骨新生を促進できるかもしれない。

### 4) ニコチンによるマクロファージからの炎症性サイトカイン産生促進機構の検索

○沼田 匠

(奥羽大・大学院・口腔保健)

喫煙が歯周病のリスクファクターであることが広く認識されるようになってきた。そして、喫煙の害作用についての基礎的知見を得るために*in vitro*において歯肉や骨芽細胞を用いた研究がなされている。しかしながら、歯周病の発症と進行に重要な役割を果たしている免疫担当細胞に対する検索は不十分である。私は、これまでの研究において、ニコチンがヒトマクロファージ系細胞においてPorphyromonas gingivalis (以下Pg) 由来のリポ多糖 (以下LPS) によるInterleukin-1 (IL-1)  $\beta$  のm-RNA発現をニコチンが相乗的に促進することを確認している。そこで、これまでの研究をさらに進め、ニコチンが及ぼすマクロファージからのサイトカイン産生促進のメカニズムを解明するために、IL-1 $\beta$  前駆体のプロセシングに参与するカスパーゼ-1に着目し検索を