

学位論文題名

成熟ラットおよび実験的骨粗鬆症ラットの骨形成に及ぼす微小電流刺激
ならびに骨膜剥離の影響

学位論文内容の要旨

欠損補綴における有床義歯や歯科インプラントによる治療では、顎堤の再建と保持は治療の成否を左右する重要な因子の一つと考えられている。本研究では、高齢者ならびに骨粗鬆症患者などの骨代謝活性の低下していると考えられる患者の顎骨において、微小電流刺激および骨膜剥離の併用による骨形成促進の可能性について検討する目的で、成熟ラットおよび実験的骨粗鬆症ラットを用い、その頭蓋骨に微小電流刺激および骨膜剥離による刺激を与えた場合の骨形成促進効果について検討した。

実験材料と方法

<実験1>

実験動物として生後26週齢の成熟ラットを用い、実験グループとして剥離・通電群、通電群、剥離群、無処置群の4群に分けた。剥離・通電群においては、頭蓋部皮膚および同骨膜を切開し、骨膜剥離子にて頭蓋骨骨膜を剥離、復位させた後、電気刺激装置を装着した。電気刺激装置は電源に3.0Vのリチウム電池を用い、220 Ω の抵抗を接続し、約10 μ Aの直流定電流とし、電極には純チタン箔を用いた。頭蓋骨骨膜上に装置の電極部を縫合、固定し、背部皮下に電源部を埋入、装着し、皮膚縫合した。通電群では頭蓋骨骨膜を剥離せず、電気刺激装置を装着した。剥離群では頭蓋骨骨膜を剥離、復位のための外科的処置を行った。無処置群は、外科的処置を加えない群とした。実験期間中、硬組織を標識する目的で、術前および屠殺前日にカルセイン、術後1週にテトラサイクリンを腹腔内に投与した。実験開始2週後に屠殺し、H.E染色を施した脱灰標本と、Villanueva Bone 染色を施した非脱灰標本を作製し、骨の形成

過程および骨の性状について病理組織学的，組織計量学的に検索した。

<実験2>

実験動物として生後13週齢の雌性Wistar系ラット47匹を用いた。そのうち40匹について卵巣を摘出し，卵巣摘出群（以下，OVX群と略す）とした。7匹については偽手術を行い，Sham群とした。手術終了後より，OVX群には0.02%カルシウム含有の低カルシウム食を，Sham群には，通常食を与え13週間飼育し，生後26週齢の実験的骨粗鬆症ラットを作製した。OVX群に対して実験1と同様な処置を施し，OVX-剥離・通電群，OVX-通電群，OVX-剥離群，OVX-無処置群とした。Sham群には実験1の剥離・通電群と同様の処置を施し，Sham-剥離・通電群とした。実験期間は2週間とし，実験1と同様に，病理組織学的検索，および組織計量学的検索を行った。

結果

<実験1>

病理組織学的所見

無処置群：頭蓋骨骨膜（以下，骨膜）は全体にわたり2～3層の線維層からなっており，その外側は少数の血管を含む鬆疎な線維性組織からなっていた。骨の表面には扁平化した骨芽細胞が一層配列しており，新生骨は全体的にはほとんど認められないが，側頭筋付着部付近において極少量添加されていた。

剥離群：骨膜は無処置群とほぼ同様な所見を示していたが，一部においてやや肥厚している個所もみられた。母床骨表層には全体的に一層の新生骨が認められ，特に側頭筋付着部付近に少量の新生骨が認められた。

通電群：骨膜は剥離群に比し全体的に厚みを増しており，類円形で豊富な細胞質を有する骨芽細胞が新生骨表面に配列していた。その周囲には線維芽細胞や拡張した毛細血管に富む肉芽組織が見られた。新生骨は剥離群に比し多く，特に側頭筋付着部に多い傾向を示したが，頭蓋骨平坦部，矢状縫合部においても認められた。新生骨内部には，1週後に投与したテトラサイクリンの瀰慢性沈着を示す緑黄色を呈する石灰化の比較的高い部分や，Villanueva bone染色で燈色を呈する石灰化の低い部分が見られ，骨髓腔周囲には赤色を呈する類骨が見られた。

剥離・通電群：骨膜は全体にわたり4～5層の線維層から成っており，他の群に比し厚みを増していた。骨膜周囲には多数の線維芽細胞や拡張

した毛細血管に富む肉芽組織が見られた。骨芽細胞は類円形または立方形をしており、好塩基性で豊富な細胞質を有し、新生骨の表面に密に配列していた。母床骨と連続した新生骨は、主に1週後に投与したテトラサイクリンの瀰慢性沈着のみられる緑黄色を呈した石灰化の比較的高い骨で、側頭筋附着部付近、頭蓋骨平坦部、矢状縫合部にかけて多量に認められた。また、一部の新生骨中には骨髓腔様構造も認められた。

組織計量学的所見

通電群、剥離群共に新生骨量は無処置群に比し有意に多い値を示した ($P < 0.05$) が、通電群と剥離群と比較した場合、有意な差はないものの通電群の方が多い傾向を示した。剥離・通電群における新生骨量は、他群に比し有意に多い値を示した ($P < 0.05$)。

新生骨の形成を部位別に見た場合、各群共に左右側頭筋附着部で多い値を示した。剥離・通電群では、頭頂骨平坦部、矢状縫合部においても他群に比し多い傾向を示した。無処置群では、左右側頭筋附着部付近において新生骨が認められた。

<実験2>

病理組織学的所見

OVX各群における骨膜の状態および新生骨の形成は、実験1の同じ処置を施した群と比較すると、組織学的には類似の傾向を示した。

組織計量学的所見

OVX-剥離・通電群における新生骨量は、Sham-剥離・通電群に比し少ない値を示したが、有意な差ではなかった。また、OVX-通電群と比較した場合、有意な差はないものの多い傾向を示し、OVX-剥離群、OVX-無処置群との比較では有意に多い値を示した ($P < 0.05$)。

新生骨の形成を部位別に見た場合、各群共に左右側頭筋附着部で他の部位に比し高い値を示した。OVX-剥離・通電群、Sham-剥離・通電群では、頭頂骨平坦部、矢状縫合部においても多い傾向を示した。

考察

剥離・通電群では他群に比し骨膜は肥厚し、骨芽細胞は、より活性の高い状態を示した。これは骨膜剥離という刺激によって細胞の活性がある程度高まっている状態に、さらに電気刺激が加わったことによる相乗効果であると考えられ、本来、細胞の活性が低いと考えられる場合には、電気刺激を単独で行うよりも骨膜剥離などを併せて行うことによっ

て、さらに細胞を賦活化できることが示唆された。

実験2においても、骨膜剥離による刺激や電気刺激は、組織の反応に程度の差こそあるものの、基本的には健常時と同様に骨形成を活性化した。このような骨代謝系に異常を認める状況下での電気刺激の作用については、さらに詳細な検索が必要であると思われるが、実験的骨粗鬆症ラットにおいても、骨膜剥離と電気刺激を併せて行うことは骨形成促進に有効であることが示唆された。

結語

- 1) 成熟ラット頭蓋骨において、骨膜剥離または微小電流刺激によって、新生骨の形成が認められたが、微小電流刺激を用いた場合の方が、新生骨量は多い傾向を示した。
- 2) 骨膜剥離と微小電流刺激を併用した場合は、それぞれ単独で用いた場合よりも、新生骨は多量に形成され、骨形成はより促進された。
- 3) 実験的骨粗鬆症ラットにおいても、骨膜剥離による刺激および微小電流刺激を与えることにより、新生骨の形成は促進された。

以上の結果より、成熟ラットならびに実験的骨粗鬆症ラットの頭蓋骨において、微小電流刺激と骨膜剥離の併用により骨形成が促進されることが明らかにされた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 川 崎 貴 生
副 査 教 授 雨 宮 璋
副 査 教 授 久 保 木 芳 徳

学位論文題名

成熟ラットおよび実験的骨粗鬆症ラットの骨形成に及ぼす微小電流刺激 ならびに骨膜剥離の影響

審査は雨宮，久保木および川崎審査委員全員が出席のもとに，論文提出者に対し提出論文の内容とそれに関連する学科目について口頭試問によって行われた。以下に，提出論文の要旨と審査の内容を述べる。

論文提出者は，高齢者ならびに骨粗鬆症患者などの骨代謝活性の低下していると考えられる患者の顎骨において，微小電流刺激および骨膜剥離の併用による骨形成促進の可能性について検討する目的で，成熟ラットおよび実験的骨粗鬆症ラットを用い，その頭蓋骨に微小電流刺激および骨膜剥離による刺激を与えた場合の骨形成促進効果について検討している。実験1では，生後26週齢の成熟ラットを用い，実験グループとして剥離・通電群（頭蓋骨骨膜を剥離，復位させた後，電気刺激装置を装着し，約 $10\mu\text{A}$ の直流定電流を与えた群），通電群（電気刺激装置を装着した群），剥離群（頭蓋骨骨膜を剥離，復位のための外科的処置を行った群），無処置群（外科的処置を加えない群）の4群に分け，骨の形成過程および骨の性状について病理組織学的，組織計量学的に検索している。実験2では，生後26週齢の実験的骨粗鬆症ラット（OVX群）および偽手術を施したラット（Sham群）を作製し，OVX群に対して実験1と同様な処置を施し，OVX-剥離・通電群，OVX-通電群，OVX-剥離群，OVX-無処置群とした。Sham群には実験1の剥離・通電群と同様の処置を施し，Sham-剥離・通電群とし，実験1と同様に，病理組織学的検索，および組織計量学的検索を行っている。

以上の方法によって得られた結果ならびに結論は次の通りである。

実験1では、剥離・通電群の頭蓋骨骨膜は他群に比し厚みを増し、新生骨の表面には活性化された骨芽細胞が密に配列していた。これについては、骨膜剥離という刺激によって細胞の活性がある程度高まっている状態に、さらに電気刺激が加わったことによる相乗効果であると考えられ、本来、細胞の活性が低いと考えられる場合には、電気刺激を単独で行うよりも骨膜剥離などを併せて行うことによって、さらに細胞を賦活化できるのではないかと考察している。また、組織計量学的には、剥離・通電群における新生骨量は、他群に比し有意に多い値を示し、特に側頭筋付着部付近において高値であった。実験2では、OVX各群における骨膜の状態および骨形成は、実験1の同じ処置を施した群と比較すると、組織学的には類似の傾向を示した。組織計量学的には、OVX-剥離・通電群における新生骨量は、Sham-剥離・通電群と比較すると少ない値を示したが、有意な差ではなかった。しかし、OVX-剥離・通電群における新生骨量は、他のOVX群と比較して多い傾向を示し、特にOVX-剥離群、OVX-無処置群よりも有意に多い値であった。

これらの結果より、以下の様にまとめている。1) 成熟ラット頭蓋骨において、骨膜剥離または微小電流刺激によって骨形成が認められたが、両者の比較では、微小電流刺激を用いた場合の方が新生骨量は多い傾向を示した。2) 骨膜剥離と微小電流刺激を併用した場合は、それぞれ単独で用いた場合よりも、新生骨は多量に形成され、骨形成はより促進された。3) 実験的骨粗鬆症ラットにおいても、骨膜剥離による刺激および微小電流刺激を与えることにより、骨形成は促進された。

次いで、本論文提出者に対して本論文の内容に関連のある質問が行われたが、これらの質問に対してそれぞれ適切な回答が得られた。本研究は、成熟ラットならびに実験的骨粗鬆症ラットの頭蓋骨において、微小電流刺激と骨膜剥離の併用により骨形成が促進されることを明らかにし、高齢者ならびに骨粗鬆症患者などの骨代謝活性の低下していると考えられる患者の顎骨において、微小電流刺激および骨膜剥離の併用による骨形成促進の可能性を示したことが評価された。また、本論文提出者は骨形成促進効果をさらに持続する方法や、臨床応用についても実験系を考えており、将来の展望も評価された。よって、学位申請者は博士(歯学)の学位授与にふさわしいものと認めた。