

学位論文題名

加齢が骨再生機序に及ぼす影響に関する病理組織学的研究

—成長期と成熟期のウサギにおける下顎骨骨空洞の治癒過程の比較—

学位論文内容の要旨

近年、急速に高齢化が進行し、腫瘍や嚢胞性疾患においても、高齢者の占める割合の増加が予想される。当科では、顎骨内の良性腫瘍や嚢胞性疾患の治療にあたって、顔貌の変形や口腔機能障害を最小限にするために、病巣摘出後に生じた骨空洞の、周囲骨組織ならびに外骨膜の骨再生力による修復を利用した顎骨保存法を、若年者から壮年者に対して行い、良好な結果を得ている。しかし、この顎骨保存法を高齢者に適応する場合には、骨再生力の低下が問題となるが、これに関しては不明な点が多い。そこで本研究では、加齢が下顎骨骨空洞の治癒過程にどのような影響を及ぼすかを明らかにする目的で、成長期と成熟期のウサギの下顎骨に実験的に骨空洞を形成し、年齢差による治癒過程の相違について比較検討した。

【材料および方法】実験動物にはニュージーランドホワイト種の雄のウサギで、成長期として生後14週齢(平均体重約2.5kg)、成熟期として生後30週齢(平均体重約3.7kg)を用いた。ペントバルビタールナトリウムで鎮静させた後、塩酸リドカインを用いて局所麻酔を行い、右下顎骨体頬側部に近遠心距離12mm、高さ10mm、深さ(平均4mm)は舌側皮質骨にまで及ぶ骨空洞を形成し、外骨膜ならびに同部周囲軟組織を縫合し閉鎖創とした。骨芽細胞の増殖動態を明らかにするために、屠殺1時間前に5-bromo-2'-deoxyuridine(以下BrdUと略す)を投与し、骨空洞形成後3、5、7、14、28日目に屠殺した。摘出した下顎骨は固定・脱灰後、パラフィン包埋し、厚さ4 $\mu$ mの連続切片を作成した。次いで、HE染色、AM染色ならびにBrdU免疫組織化学的染色を行い、治癒過程を病理組織学的に検索するとともに、新生骨梁先端部と外骨膜部のBrdU陽性細胞数ならびに新生骨量を組織計量学

的に検索した。

【結果】骨空洞の治癒過程の病理組織学的所見：骨空洞形成3日後では、成長期群、成熟期群とも、骨空洞内は血餅で満たされ、成長期群では舌側外骨膜部に新生骨の形成がみられたが、成熟期群では新生骨は認められなかった。5日後には、成長期群では骨空洞内の窩底部に肉芽組織の増生がみられ、器質化がすすみ少量の新生骨が形成されていた。成熟期群では、舌側外骨膜部には新生骨が形成されていたものの、骨空洞内には新生骨はほとんど認められなかった。7日後には、成長期群では骨空洞内窩底部の新生骨はさらに量を増し、骨梁の幅は太く、周囲には多数の骨芽細胞がみられた。頬側歯槽部の皮質骨切除部では、既存皮質骨と連続して頬側外骨膜内面に沿って新生骨が形成されていた。成熟期群においても、骨空洞内窩底部には新生骨がみられたが、骨梁は全般に幼若で幅も細く、頬側歯槽部では新生骨はみられなかった。14日後には、成長期群では骨空洞内の新生骨は急速に増加し、頬舌側幅の約3/4は新生骨により満たされ、骨梁は全般に規則的な配列を示し、窩底部の新生骨梁の周囲には破骨細胞による骨吸収が認められた。歯槽側からの新生骨は、外骨膜内面に沿ってさらに増加し、窩底部からの新生骨と癒合していた。成熟期群では、骨空洞幅の約1/2まで新生骨が形成され、頬側歯槽部でも外骨膜内面に沿って新生骨の形成がみられたが、骨梁の幅は狭く、その配列は不規則で、破骨細胞は認められなかった。21日後には、成長期群では、新生骨は骨空洞をほぼ満たし、骨梁周囲には比較的多数の破骨細胞がみられ、骨改造が進行していた。歯槽側からの新生骨はその量を増し、頬側外骨膜側では皮質骨様を呈していた。成熟期群では、骨空洞内は頬舌側幅の約2/3まで新生骨で満たされ、骨梁の周囲には破骨細胞が認められ、歯槽側からの新生骨も増加していたが、皮質骨の形成はみられなかった。28日後には、成長期群では、下顎骨の外形は頬側皮質骨の形成によりほぼ修復され、骨梁の分布は比較的規則的で、その太さもほぼ均一であった。成熟期群においても、骨空洞は新生骨で満たされ、頬舌側外骨膜部の新生骨は皮質骨様を呈し、下顎骨の外形はほぼ修復されたが、皮質骨の幅は狭く、空洞内の骨梁の分布は不規則で、骨梁の幅も細く、不均一であった。

BrdU陽性細胞数の組織計量学的分析結果：舌側外骨膜部のBrdU陽性細胞数は、両群とも3日後がピークで、その後経時的に漸減してい

く傾向を示し、全般に明かな差は認められなかった。骨空洞内新生骨梁先端部のBrdU陽性細胞数は、両群とも手術7日後にピークを示し、以降28日まで減少傾向がみられたが、全般に成熟期群の方が有意に少なかった。頬側歯槽部皮質骨切除部の新生骨梁先端部および外骨膜内面部のBrdU陽性細胞は、両群とも28日後までみられたが、成長期群では14日後に急増し、成熟期群よりも有意に多く認められた。

新生骨量の組織計量学的分析結果：両群の非手術側の計量部位に相当する皮質骨および海綿骨の総骨量は、成長期群の方が成熟期群よりも有意に多かった。手術側における骨空洞内の新生骨量は、5日後から28日後まで、成熟期群の方が有意に少なかった。非手術側の総骨量に対する手術側における28日後の骨量は、成長期群では100%以上であったが、成熟期群では85%に止まっていた。舌側外骨膜部の新生骨量は、3日から14日後まで、両群とも増加傾向がみられたが、成熟期群の方が有意に少なかった。

【考察】本実験で用いた14週齢成長期のウサギは、ヒトの10歳代思春期に相当し、下顎骨の加齢変化がみられる30週齢成熟期のウサギは、ヒトでは56歳以降の年齢に相当するものと考えられた。骨空洞内の治癒過程において、実験期間中を通して、成熟期群では、新生骨の形成開始時期と形成速度の遅延、新生骨梁の分布の不規則性、骨量の低下、骨改造の遅延がみられ、BrdU陽性細胞数も有意に少なく、加齢による細胞増殖能の減退による修復の遅延が示された。骨芽細胞数の減少は、成長ホルモン依存性のIGF-Iが加齢により低下していることと関連しているものと考えられた。頬舌側外骨膜部においても、成熟期群では新生骨の形成開始時期および皮質骨への骨改造に遅延がみられたが、外骨膜内面部にBrdU陽性細胞がみられ、28日後には骨量は少なかったものの、成長期群と同様に皮質骨を形成していた。このことは、成熟期群でも外骨膜部の細胞は活発に増殖して骨芽細胞へ分化し、最終的に皮質骨の形成に関与することを示すものであり、高齢者における顎骨保存法の適応に関して、一つの条件を示唆したものと考えられた。

#### 【結論】

1. 成熟期群では、成長期群と比較して、骨空洞内および頬舌側外骨膜部における新生骨の形成開始時期と形成速度、骨改造に関して、加齢の影響による修復の遅延が認められた。

2. 骨空洞内の新生骨梁先端部のBrdU陽性細胞数は、7日以降28日まで全般に成熟期群の方が有意に少なく、加齢の影響による骨芽細胞の増殖能の低下が示唆された。

3. 骨空洞内の新生骨量は、成熟期群の方が有意に少ない傾向を示したものの、手術28日後には成長期群と同様に、骨空洞内は新生骨で満たされ、外骨膜部では皮質骨が形成され、下顎骨の外形はほぼ修復された。このような修復過程で、外骨膜が下顎骨の形態回復に重要な役割を演じていることが示唆された。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 戸 塚 靖 則  
副 査 教 授 脇 田 稔  
副 査 教 授 福 田 博

## 学位論文題名

### 加齢が骨再生機序に及ぼす影響に関する病理組織学的研究

－成長期と成熟期のウサギにおける下顎骨骨空洞の治癒過程の比較－

審査は、審査担当者全員の出席のもとに、論文申請者に対し、口頭試問により、提出論文の内容ならびにそれに関連した学科目について行われた。

本研究は、加齢が下顎骨骨空洞の治癒過程にどのような影響を及ぼすかを明らかにする目的で、成長期と成熟期のウサギの下顎骨に実験的に骨空洞を形成し、年齢差による治癒過程の相違について比較検討したものである。

実験動物は、ニュージーランドホワイト種の雄ウサギで、成長期モデルとして生後14週齢、成熟期モデルとして生後30週齢の動物を用いた。ペントバルビタールナトリウムで鎮静させた後、塩酸リドカインを用いて局所麻酔を行い、右下顎骨体頬側部に近遠心距離12mm、高さ10mm、深さ約4mmの骨空洞を形成し、外骨膜ならびに周囲軟組織を縫合し閉鎖創とした。骨芽細胞の増殖動態を明らかにするために、屠殺1時間前に5-bromo-2'-deoxyuridine（以下BrdUと略す）を投与し、骨空洞形成3、5、7、14、21、28日後に屠殺した。摘出した下顎骨を固定・脱灰後、パラフィン包埋し、厚さ4 $\mu$ mの連続切片標本を作成した。次いで、HE染色、AM染色ならびにBrdU免疫組織化学的染色を行い、治癒過程を病理組織学的に検索するとともに、新生骨梁先端部と外骨膜部のBrdU陽性細胞数ならびに新生骨量を組織計量学的に検索した。

#### 実験結果および結論

##### 1. 病理組織学的所見

- 1) 成長期群では、骨空洞形成3日後、舌側外骨膜部に反応性の新生骨形成がみられ、5日後には骨空洞内の肉芽組織の器質化がすすみ、窩底部から新生骨が形成されていた。成熟期群では、舌側外骨膜部の新生骨形成は骨空洞形成5日後から認められ、骨空洞内の新生骨は7日後から形成されていた。このように、成熟期群では成長期群と比較して、新生骨形成の開始時期の遅延が認められた。
- 2) 頬側歯槽側の皮質骨切除部において、成長期群では、骨空洞形成7日後には既存皮質骨と連続して外骨膜内面に沿って新生骨が形成されていた。一方、成熟期群では、7日後では新生骨は認められず、14日後に新生骨が形成されていた。このように骨空洞を被覆する頬側外骨膜部の新生骨の形成開始時期においても、成熟期群に遅延がみられた。
- 3) 骨空洞形成14日後には、成長期群では、骨空洞内で形成された新生骨梁幅は太く、全般に規則的な配列を示し、骨梁の周囲に破骨細胞による骨吸収が認められたが、成熟期群では骨梁の幅は狭く、その配列は不規則で、同時期に破骨細胞は認められなかった。

4) 骨空洞形成21日後には、成長期群では新生骨は骨空洞をほぼ満たし、歯槽側からの新生骨はその量を増し、頬側外骨膜側では皮質骨様を呈していた。成熟期群では、骨空洞内は頬舌側幅の約2/3まで新生骨で満たされ、骨梁の周囲には破骨細胞が認められ、歯槽側からの新生骨も増加していたが、皮質骨の形成はみられなかった。以上より、骨空洞内の骨改造および皮質骨形成に関しても、成熟期群に遅延が認められた。

5) 骨空洞形成28日後においては、成長期群では、下顎骨の外形は頬側皮質骨の形成によりほぼ修復され、また成熟期群においても、骨空洞は新生骨で満たされ、頬舌側外骨膜部の新生骨は皮質骨様を呈し、下顎骨の外形はほぼ修復された。このことは、修復までに要する時間は成長期群に比べて延長するものの、成熟期群においても下顎骨の形態はほぼ完全に回復することを示している。

## 2. BrdU陽性細胞数の組織計量学的分析結果

骨空洞内新生骨梁先端部のBrdU陽性細胞数は、両群とも骨空洞形成7日後にピークを示し、以降28日まで減少傾向がみられたが、全般に成熟期群の方が有意に少なかった。頬側歯槽部皮質骨切除部の新生骨梁先端部および外骨膜内面側のBrdU陽性細胞は、成長期群では14日後に急増し、成熟期群よりも有意に多く認められた。これらの所見は、成長期群に比べ、成熟期群では骨芽細胞の増殖能が低下していることを示唆している。

## 3. 新生骨量の組織計量学的分析結果

両群の非手術側の計量部位に相当する皮質骨および海綿骨の総骨量は、成長期群の方が成熟期群よりも有意に多かった。手術側における28日後の骨量は、成長期群では100%以上であったが、成熟期群では85%に止まっていた。

論文の審査にあたって、申請者による研究の要旨の説明後、本研究ならびに関連する研究について、主査および副査から質問が行われた。いずれの質問についても明快な解答がえられ、また将来の研究の方向性についても具体的な見解が示された。本研究は、加齢により骨芽細胞の増殖能は低下し、骨再生に要する時間は延長するものの、成熟期以降においても形態的にはほぼ完全に回復する能力を有していることを明らかにしたことが高く評価された。本研究の業績は、口腔外科の分野はもとより、関連領域にも寄与するところ大であり、博士（歯学）の学位授与に値するものと認められた。