

学位研究紹介

rhBMP-2とe-PTFE膜の併用における骨増生に関する組織形態学的研究

Morphohistological study on bone augmentation using rhBMP-2 with e-PTFE membrane

新潟大学歯科補綴学第二講座¹口腔解剖学第一講座²北海道医療大学歯学部口腔解剖学第一講座³竹石英之¹, 入江一元³, 草刈 玄¹,
江尻貞一², 小澤英浩²

2nd Department of Prosthodontics

Faculty of Dentistry, Niigata University

Hideyuki Takeishi, Kazuharu Irie, Haruka Kusakari,

Sadakazu Egiri, Hidehiro Ozawa

緒 言

現在, 口腔インプラントは欠損補綴において高い成功率と長期的な予後を見込める機能回復法として広く普及している。インプラント治療を行う際, 十分な支持骨量が必要とされる。支持骨量が不足する症例では, 骨欠損部を遮断膜によって被覆するGuided Bone Regeneration(GBR)法が主に施されているが, これまでのGBR法のみでは, 十分な骨量の確保が困難な症例が存在するも事実である。近年, BMPの備える骨誘導能が注目を浴びており, この因子の骨再建への応用は, 積極的な骨増生を獲得し, 可及的にインプラント体植立への移行を実現する可能性を秘めたものであると考える。そこで本研究では, 従来, 広く臨床で用いられているGBR法に骨補填材としてrhBMP-2をキャリアーと併用し, 骨増生におけるその効果を観察するとともに, 術者の意とする形態付与が可能であるか検討した。合わせて新生骨形成に伴う骨形成系・吸収系細胞の動態および新生骨基質の変化を組織形態学的に検索し, 検討を加えた。

実 験 方 法

実験には 6週齢Wistar系雄性ラットを用いた。ラット頭頂骨部に骨窩洞を形成し, その上にpolytetrafluoroethylene (e-PTFE)膜にて形成した直径2.5mm, 高さ0.6mmの円柱形スペーサーを設置した。この中に5.0 μ gのrhBMP-2

をキャリアー(スポンゼルにpolylactic acid - polyglycolic acid copolymerをコーティングしたもの)とともに填入した群(以下, 併用群と略す), スペーサーを用いずrhBMP-2とキャリアーのみを骨窩洞上においた群(以下, BMP群と略す), スペーサーのみを設置した群(以下, PTFE膜群と略す)の3群について実験を行った。術後1, 2, 4, 8週に灌流固定を行い, 通法に従いパラフィン矢状断切片を作製した。それらの切片はH-E染色を施すとともに, 非特異的アルカリホスファターゼ(ALPase)およびオステオポンチンを免疫組織化学的, 酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ(TRAPase)活性を酵素組織化学的に検出した。また術後8週の試料の一部は, methyl methacrylate樹脂に包埋し, 研磨切片を作製後, contact microradiograph (CMR)の撮影を行った。

結 果

術後1週から2週の早期段階では, 併用群は骨窩洞およびスペーサー内全域に海綿骨梁状の新生骨が形成されており, スペーサー内側の表面はほぼ全面, 新生骨によって裏打ちされていた。BMP群では最も早くから新生骨を誘導し, 移植体の外形に沿って移植体をドーム状に被蓋する新生骨の形成が認められ, 一部ではドーム状新生骨から移植体の内側に向かって海綿骨梁が形成されていた。一方, PTFE膜群では, 骨窩洞壁からスペーサー内上方に向かう新生骨が, 既存骨をやや上回るレベルまで形成されていたが, スペース内は間葉系細胞や細胞間基質と血管によって満たされていた。

またALPaseおよびTRAPase活性の局在に注目すると, 併用群では, 新生海綿骨梁表面にALPase陽性の骨芽細胞とTRAPase活性を示す破骨細胞が混在して観察された。BMP群においては, TRAPase活性を示す破骨細胞は, ドーム状の新生骨外側(頭皮側)の線維組織に面する骨表面において多数観察された。PTFE膜群では, スペース内に面する新生骨表面に, 密に配列するALPaseの局在を示す骨芽細胞が観察された。一方, TRAPase活性陽性の破骨細胞は, 骨基質中の血管腔内壁に観察された。

4週以降, 併用群ではスペーサー内に形成された海綿骨梁は肥厚し, 骨梁と骨梁の間には骨髄の形成を認めた。骨基質はエオジンに淡染する部位と既存骨と同程度に濃染する部位とが混在して観察された。濃染する部位の骨基質は層板状の構造を呈するとともに, 骨小腔の配列も比較的規則的であった。BMP群ではドーム状の新生骨内部には海綿骨梁が形成されていたが,

ドーム状の新生骨はその高さを減じ、穏やかな傾きで周囲頭頂骨に移行していた。PTFE膜群ではスペーサー内の一部で形成された新生骨がスペーサーによる天蓋の高さまで観察され、海綿骨梁間には骨髄が形成されていたが、スペーサーの天蓋と側壁との隅角部分では骨形成は認められず、線維性組織が観察された。また術後8週では、3群とも形成された新生骨は既存骨に近似した石灰化度を呈しており、各群における差はほとんど認められなかった。

考 察

術後2週の新生骨形成を比較すると、PTFE膜群では骨窩洞をやや上回るレベルまで骨形成を認めたが、rhBMP-2を用いた併用群やBMP群における新生骨の形成量には及ばなかった。このことから併用群では、PTFE膜群と同様に骨窩洞に開いた血管や骨髄腔から供給される骨原性細胞によって新生骨形成が行われるが、スペーサー内においてもrhBMP-2の影響によって骨形成が促進されることが確認された。

また、術後2週のBMP群においては、形成されたドーム状新生骨の外側(頭皮側)骨表面において、密に配列するTRAPase活性陽性の破骨細胞が観察され、この時点で骨吸収機転が働いていることが示唆される。併用群ではこのような破骨細胞の出現を認めないため、BMP群で2週以後、観察される骨吸収は、rhBMP-2により形成された骨の特異性ではなく、頭皮からの圧力が大きな原因であると考えられる。

一般に骨組織では、一度形成された骨もリモデリングによって骨が緻密化していくと考えられている。術後2週の時点で、3群とも形成された新生骨梁表面にALPaseの局在を示す骨芽細胞、TRAPase活性を示す破骨細胞が混在していた。更に各群の新生骨はエオジン

に淡染しており、濃染した既存骨と明らかな染色性の違いを示したのに対し、術後4週以降、骨基質中にエオジンに淡染する部分と濃染する部分が混在して観察された。このことは、術後2週までに形成された骨基質が線維性骨から層板骨へと移行するに伴って、経時的にリモデリングされていることを示唆している。

PTFE膜群では、術後4週には新生骨がスペーサーの天蓋の高さに達する部位も観察され、rhBMP-2を使用した他の2群と比較すると緩徐ではあるが、骨形成が進行していることを示している。術後4週および8週におけるスペーサー内の骨基質を観察すると、PTFE膜群では併用群やBMP群と比較して基質の配列が層板状を示すところが多く、新生骨表層ではエオジンで濃染される部分が多いことから、添加型の穏やかな骨形成が進行したものと推察される。

術後8週の段階では、3群における新生骨はどれも石灰化度が既存骨に近似した程度まで高まっており、3群の間ではほとんど差は認められなかった。よってrhBMP-2により誘導された骨はリモデリングを繰り返すことによって既存骨とほぼ遜色のない程度まで緻密化が進行し、石灰化度が高まることが示された。

更に術後8週の時点で、併用群では術後2週で認められたスペーサー内側の骨の裏打ちがほぼ全面で保たれていたのに対し、PTFE膜群では術後4週と同様にスペーサーの天蓋と側壁との隅角部分に線維性組織が残存していた。本研究ではそれらの線維性組織に面する新生骨表層にALPaseの局在が認められなかったこと、活発な骨基質形成も認められなかったことから、新生骨に置換される可能性は低いと考える。このことから併用群のようにスペース内にrhBMP-2とキャリアーを補填することにより、スペーサーの形態に一致させた骨増生を可能にする点でも有効と考えられる。

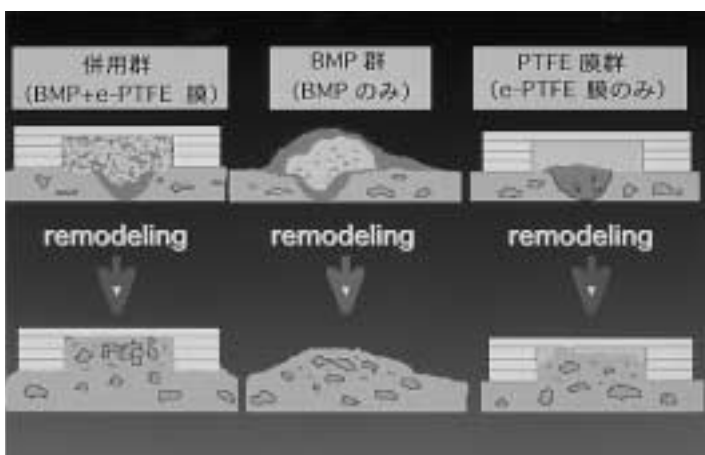


図 術後2週から8週までの各群における新生骨動態を示すシェーマ