

学 位 研 究 紹 介

ヒト脱灰骨基質の骨再生足場材としての有用性

Usefulness of human demineralized bone matrix as a scaffold for bone regeneration

新潟大学大学院医歯学総合研究科 歯周診断・再建学分野

山田 葵

Department of Periodontology, Department of oral biological
Science Niigata University Graduate School of Medical and
Dental Sciences

Aoi Yamada

【背景および目的】

歯周病や腫瘍、外傷をはじめとした口腔疾患の治療においては、歯槽骨や顎骨を広範囲に失うこともしばしばあり、顎補綴やインプラント治療によって整容と咀嚼機能の回復を図ることが社会復帰のために重要である。歯槽骨萎縮症に対するインプラント治療では従来の自家骨移植に代わって、様々な人工材料を用いた歯槽骨顎骨再生療法が注目されているが、広範囲顎骨欠損の再建治療では手術侵襲、形態と機能の点でいまだ改善の余地を残している。

新潟大学医歯学総合病院ではこれまでに120例を超える患者に培養自家骨膜細胞による顎骨再生療法を患者に提供している。本治療では培養自家骨膜細胞・自家骨・platelet-rich plasma (PRP) を混和したものを移植材として使用することで、自家骨採取量を従来の3分の1程度にまで減量し、迅速かつ良質の骨再生を可能にしているものの、依然として自家組織の採取を必要としている。さらなる低侵襲化のためには自家骨とPRPに代わる細胞親和性ととも、骨誘導能に優れた移植材料の検討が必要である。本研究は骨再生細胞療法における細胞移植担体の要件を検討することを目的に骨誘導活性を有するヒト脱灰骨基質 (DBM) の有用性について、基礎的な検討を行った。

【材料と方法】

8週齢雄ヌードラットの頭蓋骨頭頂部に直径9mmのポリ乳酸樹脂円形皿状シェルを被覆材として、DBMお

よび焼成ウシ骨顆粒 (Bio-Oss) を移植した。それぞれについてヒト培養骨膜細胞移植群 [CPC(+), n=3] および同細胞非移植群 [CPC(-), n=3] を設定した。移植4週後に移植領域のマイクロCTを撮影し、形成骨の体積を計測した。また非脱灰凍結切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色およびアリザリンレッド (ARS) 染色による移植部位の骨組織形成、アルカリホスファターゼ (ALP) および酒石酸耐性酸性ホスファターゼ (TRAP) の酵素組織染色による骨芽細胞および破骨細胞の分布を組織学的に観察した。加えてDBM移植群のARS染色組織像については画像解析ソフトImageJを用いて骨形成密度を計測した。

【結果と考察】

マイクロCTの移植骨領域の所見では、Bio-Oss移植群では移植材が原形で残遺する所見が観られたのに対し、DBM移植群では移植時には存在しない新たな硬組織レベルの不透過像によって置換され、骨形成の誘導が示唆された。DBM移植群における体積計測では、CPC(+)群においてCPC(-)群と比較して有意に大きい形成骨体積が検出された (図1)。

組織学的評価においては、Bio-Oss移植群ではHE染色およびARS染色において移植材顆粒は細胞に乏しい線維性組織によって包含されており、骨形成は既存骨に接するわずかな範囲にのみ観察された。ALP陽性およびTRAP陽性細胞も既存骨に近接する部位に限局的に確認された。それに対し、DBM移植群では移植材が初期形成骨により置換され、それらの形成骨は明瞭なアリザリンレッド染色性を示した。また形成骨の全ての表面にALP活性陽性細胞のライニングが観察された (図2)。同時に形成骨全体にTRAP陽性の破骨細胞の誘導が確認された。

DBM移植群のCPC(+)群およびCPC(-)群の骨形成密度の計測では、両者に有意な差は認められなかった。

Bio-Oss移植群では移植後4週間の時点で周囲に骨芽細胞、破骨細胞の誘導はほとんど観察されなかったのに対し、DBM移植群では移植床側から離れた移植材まで骨誘導が進展し、形成骨周囲に骨芽細胞と破骨細胞の広範な分布が確認された。これはDBMに含まれるBMP-2、その他の成長因子および骨基質由来タンパクの作用による迅速な骨組織誘導作用を示唆している。骨誘導

タンパク質は皮質骨の石灰化した基質中に存在しているので、脱灰によって BMP-2 をはじめとする骨誘導タンパク質が露出し、周囲細胞への直接作用によりその骨誘導効果を強化しているとされている。DBM は 93% がコラーゲンで構成されており、骨伝導をもたらす細胞の遊

走表面として寄与していると考えられた。また、DBM 移植群において CPC(+) 群が、CPC(-) 群に比べ骨形成量において有意に高い傾向を示し、骨再生細胞療法における細胞移植担体としての DBM の可能性が示唆された。

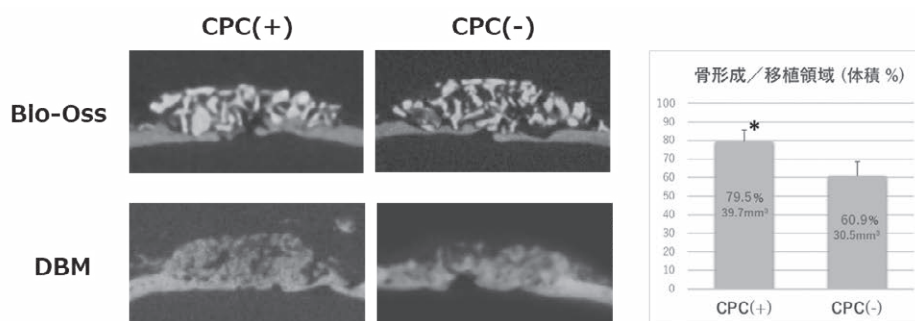


図1. マイクロ CT 画像において Bio-Oss 移植群では移植材顆粒が残遺し、その周囲に骨の誘導は確認できない。DBM 移植群では移植材にはなかった X 線不透過像が出現した。DBM 移植群のマイクロ CT 画像による形成骨体積の計測では CPC(+) 群の骨形成体積は CPC(-) 群に比べて有意に大きい値を示した。

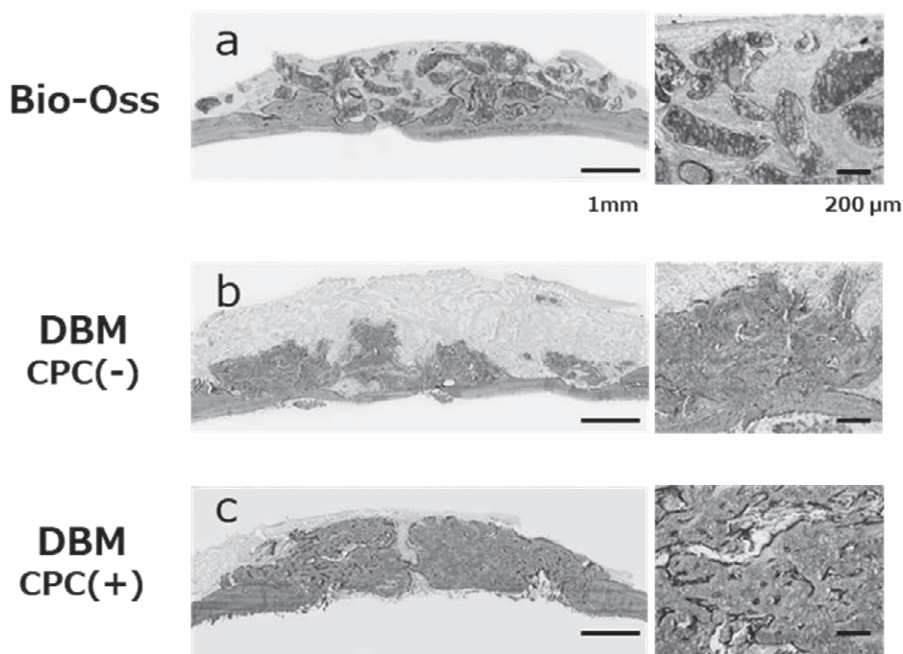


図2. ALP 酵素組織染色所見

a : Bio-Oss 移植群では移植材の隣接域および周囲の線維性組織に ALP 陽性は観られない。
b および c : DBM 移植群では新生骨表面に明瞭な ALP 陽性細胞のライニングが確認できる。