



Title	ラット頭蓋骨欠損部に埋入したウシ脱灰象牙質由来コラーゲン移植材周囲における骨形成の検討 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	安永, 賢史
Citation	北海道大学. 博士(歯学) 甲第15968号
Issue Date	2024-03-25
Doc URL	<a href="http://hdl.handle.net/2115/92615">http://hdl.handle.net/2115/92615</a>
Rights(URL)	<a href="https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</a>
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Yoshifumi_Yasunaga_abstract.pdf (論文内容の要旨)



[Instructions for use](#)

# 博士論文

---

ラット頭蓋骨欠損部に埋入したウシ脱灰象牙質由来コラーゲン移植材周囲における骨形成の検討

---

令和6年3月申請

北海道大学

大学院歯学研究科口腔医学専攻

安永賢史

# 学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（歯学） 氏名 安永賢史

## 学位論文題名

ラット頭蓋骨欠損部に埋入したウシ脱灰象牙質由来コラーゲン移植材周囲における骨形成の検討

キーワード（5つ） BDDM, 脱灰象牙質, 象牙細管, 骨形成, 骨補填材

インプラント埋入を目的とした骨造成には、自家骨、自家歯牙脱灰象牙質をはじめ、異種骨、人工骨などの様々な骨補填材が使用されている。脱灰象牙質は、I型コラーゲン量が骨と同等であること、骨形成タンパク質（Bone Morphogenetic Protein : BMP）を含有していること、象牙細管からなる多孔質構造を有していること、さらには自家骨と同程度の骨誘導能を有することなどから、骨補填材としての可能性が期待されている。また、自家脱灰象牙質については、骨造成処置に関する良好な臨床成績も報告されている。しかし、自家由来象牙質は、埋伏智歯や歯科矯正処置に際しての抜歯からのみ採取が可能であり、自家骨以上に採取量が制限される。この問題を解決するために、大量かつ均質な象牙質の採取が可能であるウシの歯の脱灰象牙質由来コラーゲン移植材(Bovine Decalcified Dentin Matrix 以下 BDDM)が着目され、骨補填材としての開発が進められている。本研究においては、ラット頭蓋骨に

自然治癒が生じない大きさの骨欠損部を形成して BDDM を埋入し、組織反応と骨形成を観察することにより BDDM の骨補填材としての可能性を検討した。

ウシ下顎の歯を抜歯後に粉碎し、篩い分けにより細粉 (300~1040 $\mu$ m) とし、1%炭酸ナトリウムによるアルカリ処理後、1M リン酸・60%エタノール水溶液による脱灰処理を行った。その後、凍結乾燥処理、ガンマ線滅菌を施し、埋入材料(BDDM)とし、走査型電子顕微鏡(SEM)にて観察した。実験動物として 12 週齢ウイスター系雄性ラットを使用し、イソフルランによる全身麻酔下にて、外径 9mm のトレフィンバーを用いてラットの頭蓋骨に骨欠損部を形成した。欠損のままとしたものと炭酸アパタイトを骨欠損部に埋入したものを対照群 (それぞれコントロール群および炭酸アパタイト群) とし、BDDM を骨欠損部に埋入したものを実験群 (BDDM 群) とした。埋入 4 および 12 週後に灌流固定を行い、周囲組織とともに埋入した試料を摘出した。通法に従い EDTA 脱灰を行い、パラフィン標本を作製し、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色、酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ (TRAP) 染色を施した。光学顕微鏡にて材料周囲における組織反応と骨形成について観察した。また、12 週後の HE 染色標本を使用して新生骨形成量について組織形態計測を行い、各群間での比較検討を行った。一部の試料については透過型電子顕微鏡(TEM)にて観察した。なお本研究は「国立大学法人北海道大学動物実験に関する規定」に基づき行った (北海道大学動物実験承認番号 21-0114)。

SEM 観察では、BDDM 表面には縦断および横断された象牙細管が観察され、象牙細管周囲および内部にはコラーゲン線維が確認された。

動物埋入実験において、コントロール群では、4 週後に欠損部断端の既存骨に連続してわずかに幼弱な新生骨が形成され、12 週後には既存骨から離れた脳硬膜側の一部にも新生骨が認められたが、骨欠損部の大部分は線維性結合組織で満たされていた。炭酸アパタイト群では4 週後においては、既存骨から連続して形成された新生骨が炭酸アパタイト顆粒表面に接していたが、骨組織の認められない炭酸アパタイト顆粒の間には線維性結合組織が観察された。12 週においては骨形成が進み、炭酸アパタイトを取り囲むような新生骨が観察され、一部では層板構造を呈していた。また、骨形成が認められた炭酸アパタイト顆粒に接して TRAP 陽性細胞が観察されたことから炭酸アパタイトの吸収と骨組織への置換が示された。一方、皮膚側の炭酸アパタイト顆粒は比較的密な線維性結合組織で被包され、その表面には TRAP 陰性の多核巨細胞が観察された。BDDM 群では、4 週後において骨欠損部の BDDM 周囲には炎症性細胞を伴う線維性結合組織が認められた。脳硬膜側においては、既存骨から連続して形成された新生骨が一部の BDDM 表面に接し、BDDM の表層を囲むように新生骨が形成されていたが、骨形成が認められない BDDM 表面には多くの多核巨細胞が観察された。12 週後においては、新生骨組織の形成が進み、脳硬膜側の BDDM は新生骨組織に囲まれ、一部の BDDM と新生骨組織の境界は不明瞭であった。骨組織が形成された

BDDM 表面には TRAP 陽性細胞が観察され、BDDM の吸収と骨組織への置換が示唆された。

TEM 観察においては、4 週では BDDM に接する多核巨細胞内に BDDM 由来の象牙細管壁構造が確認されるとともに、マクロファージが接する BDDM 表面のコラーゲン線維の逸脱が観察され、BDDM のマクロファージや異物巨細胞による貪食と分解が示唆された。12 週においては、BDDM と新生骨組織が直接接しているのが観察されたが、その界面は不明瞭であり、BDDM のコラーゲン線維の間隔が開いていることから、BDDM の新生骨組織への置換が示唆された。

新生骨量については、対照群に比較して炭酸アパタイト群および BDDM 群では多い傾向を示し、BDDM 群は炭酸アパタイト群に比較しやや多い傾向を示したが、クラスカルウォリス検定では、いずれの群間においても有意差は認められなかった。

以上から BDDM の生体内での吸収と骨組織への置換が示唆され、骨補填材としての可能性が示された。