

平成 21 年 5 月 27 日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19791567
 研究課題名（和文） 高気圧酸素療法を適用した上顎歯槽骨延長部への歯の移植に関する実験的研究
 研究課題名（英文） Experimental Study on the Transplanted Tooth into The Regenerated Area after Distraction Osteogenesis with Hyperbaric Oxygen Treatment
 研究代表者
 長濱 浩平（NAGAHAMA KOUHEI）
 東京大学・医学部附属病院・助教
 研究者番号： 60401368

研究成果の概要：

歯槽骨延長による新生骨部位への歯の移植の成功率をあげるためには、移植床、移植歯、移植環境を良好とする必要がある。本研究において、移植床である骨延長部の骨化は高気圧酸素療法を適用することにより促進されること、さらに周辺組織の血流回復も促されることが確認された。次に、骨延長量に対する骨化の度合いには閾値が存在することを明らかにし、実際の臨床において骨延長部に歯の移植を試みる場合、治療計画の段階で移植可能な総骨延長量を慎重に考える必要があることを示した。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,200,000	0	2,200,000
2008 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	330,000	3,630,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・矯正・小児系歯学

キーワード：口腔機能再建、高気圧酸素療法、歯槽骨延長

1. 研究開始当初の背景

顎裂の閉鎖に骨延長法を応用し、新生された歯槽骨部位に歯を移動することにより補綴処置を施すことなしに緊密な咬合を確立する試みが行われつつある。しかし、問題点として骨延長術は骨延長により形成された新生骨の骨化に時間がかかるため煩雑な装置による長期の固定を余儀なくされること、又それにより長い入院期間を必要とすることから患者の負担が非常に大きい。この問題点を解決する方法として高気圧酸素療法に着目した。高気圧酸素療法は骨形成促進、さらに周辺軟組織の損傷回復効果により骨折の早期治癒をもたらし、良好な臨床成績をあ

げている治療法である。しかしながら現在まで高気圧酸素療法の顎顔面領域への応用に関する報告は少ない。さらに高分圧酸素下で歯槽骨延長を行ったもの、およびその新生歯槽骨部へ歯の移植を行った基礎的研究報告は皆無である。

2. 研究の目的

本研究では高分圧酸素下で歯槽骨延長を行い、形成された新生歯槽骨へ歯の移植を施す際に生じる歯根周辺組織の変化様相について解明し、本術式を臨床応用する際の至適条件を明らかにする。

3. 研究の方法

実験動物にビーグル犬を用い、顎裂部を想定した実験的骨欠損部に上顎歯槽部の骨延長を行ない、新生骨の形成様相や骨周囲の組織変化について研究、検討を行う。高気圧酸素療法 (HBO) に基づく条件下で、1) 歯槽骨延長を行い形成された新生歯槽骨の形成様相と、2) 形成された新生歯槽骨へ自家歯牙移植を行う際の歯根膜周辺の組織変化について組織学的手法および pQCT (peripheral Quantitative Computed Tomography) 等を用いて経時的に解析し、歯の移植に伴う歯周組織の変化様相および特徴の抽出を図り、高気圧酸素を用いて形成された上顎歯槽部の骨延長部位へ歯の移植を行う際の至適条件を明らかにする。

・仮骨延長法の術式

ビーグル成犬雌6頭(平均月齢 13.9 ± 2 カ月)を用い、個別のケージで明/暗サイクル14/10時間、 21 ± 2 にて飼育し、飼料(DS-AR, オリエンタル酵母工業社)は1日1度、水とともに与えた。

チオペンタールナトリウム(ラボナル注射用0.3g, 田辺製薬)の静脈内投与による全身麻酔下にて、上顎左側切歯3本を抜歯後、10mmの顎裂を想定した骨欠損をカーバイドバーを用いて、左側(以下骨延長側)に作製した。また同時に両側の第一、第二前臼歯を抜歯した。右側は未処置のまま、対照側とした。2カ月の治療期間の後、上顎左側第三前臼歯近心面、犬歯歯根上縁の高さ、

また、口蓋正中から左側に5mmの部位にて骨切りを行い、犬歯を含む移動骨片を作製した。延長装置(KWA-3007, ケイセイ医科工業社)は皮質骨に骨ネジにて装着した18E(図1)。術後、3日間の待機期間の後、骨延長を1日1mm施行し、6日で6mm延長した3頭を6mm延長群、10日で10mm延長した3頭を10mm延長群とした(図2)。なお、本研究は東京医科歯科大学大学院動物実験委員会の定める規則に基づき計画され、承認を得たうえで行われた(承認番号17592131, 19592347, および19791567)。

・歯髄血流測定

レーザードップラーによる血流測定は Bonner 19E, Baab 20Eの方法に準じて行われ、全身麻酔下で上顎両側犬歯歯髄血流をレーザードップラー血流計(Periflux4001, PERIMED社E21, 22E)にて測定した。プローブ挿入孔として深さ1mmの窩洞を両側犬歯頰側面に形成し、カスタムメイドのステントを用いて再現性を高めた23E。血流測定は術前および骨延長中は毎日、骨硬化期間中は10日ごとに術後100日目まで計測した。測定した犬歯歯髄血流値は術前の計測値に対する割合として、

血流回復パーセンテージ(%blood flow)を計算し、両群で比較した。

Peripheral quantitative computed tomography (pQCT)を用いた骨密度測定骨切り術後100日目に、両群ともチオペンタールナトリウム過剰投与にて殺し、10%ホルマリンにて固定し、通法に従い脱水後、ポリエステルレジン(リゴラックR, 昭和高分子社)中に非脱灰で包埋した。その後、第三前臼歯近心面を基準面とし、1mm間隔で近心に向かってpQCT(XCT Research SA+, Stratec社)を用いて、新生骨部位の骨密度の計測を施行した。骨密度 690 mg/cm^3 以上を皮質骨領域、 $395 \sim 690 \text{ mg/cm}^3$ を皮質骨下領域、 $230 \sim 395 \text{ mg/cm}^3$ を海綿骨領域と定義した24~26E。延長骨部位の断面を観察するため、第三前臼歯の近心面から近心方向に1mm幅で6mm延長群では6枚、10mm

延長群では10枚のCT計測を行った(図3)。骨延長を行っていない右側では犬歯歯根を避け同様に5枚の計測を行った。そのうち、延長部位中央の連続する3枚のスライスを選択し、新生骨の骨密度、骨塩量、骨面積それぞれの平均値を両群間で比較した。なお、新生骨の測定範囲は、母骨を計測部位から除くため、各スライスにおいて $10 \times 7.5 \text{ mm}$ の大きさとし、鼻中隔から頰側に5mm、上顎犬歯歯髄から2mm下方に設定した。

・骨組織形態計測

非脱灰試料を、pQCTでのスキャン面(図3)に相当する位置、すなわち、第三前臼歯の近心面から近心方向に1mmごとの前頭面断方向にスライスした。そして厚さ50mmの研磨切片を作製し、0.1%、pH7.0 トルイジンブルー染色を行ったうえで、光学顕微鏡にて解析を行った。濃染している骨組織の周囲をトレースし、画像処理システム(KS-400, Carl Zeiss社)を用いて、骨面積と骨周囲長を算出し、それをもとにNoji 27E, Parfitt 28Eの方法に準じて以下の値を求めた。測定範囲面積に対する骨領域面積の割合(ReB.A: 骨面積/組織面積 $\times 100$ E) 骨梁幅(ReB.Th: $2 \times$ 骨面積/骨周囲長E) 骨梁数(ReB.N: $1/2 \times$ 骨周囲長/組織面積E) 骨梁間隙(ReB.Sp: $1/\text{ReB.N} - \text{ReB.Th}$ E) なお、測定範囲の定義は、pQCTによる骨密度計測の際と同様に、延長部位中央の連続する3枚のスライスを選択し、各スライスにおいて $10 \times 7.5 \text{ mm}$ の大きさを、鼻中隔から頰側に5mm、上顎犬歯歯髄から2mm下方に設定した。

・統計処理

算出された値は、平均値 \pm S.D.で表現し、統計処理ソフト(StatView, Abacus Concepts社)を用いてMann-Whitney rank sum testにより両群を比較した。 $p < 0.05$ を有意水準とし

た。

4. 研究成果

移植床である骨延長部の骨化を、高気圧酸素療法を適用することによって促進されること、さらに周辺組織の血流回復も促されることが確認された。次に、骨延長量に対する骨化の度合いには閾値が存在することを明らかにし、実際の臨床において骨延長部に歯の移植を試みる場合、治療計画の段階で移植可能な総骨延長量を慎重に考える必要があることを示した。

抜歯、骨欠損作成や延長装置装着を含む一連の手術は6匹すべてのイヌで施行され、骨延長は計画どおり達成できた。なお、実験開始時、平均体重(標準偏差, 最低値-最高値)は6mm延長群では10.7kg(0.6, 10.2-11.3)であり、10mm延長群では10.3kg(0.4, 9.9-10.7)であった。実験終了時では、それぞれ、10.7kg(0.6, 10.0-11.1)と、10.9kg(0.6, 10.2-11.4)であった。実験開始時、実験終了時ともに、平均体重は両群間に有意差を認めなかった。_ . 歯髄血流測定

両群とも骨延長側では平均% blood flowは骨切り直後に約20%近くにまで減少したが、6mm延長群では骨切り後10日目より回復が開始し、70日目よりその上昇が顕著となり、90日目には元のレベルまで回復した。一方、10mm群では、50日目ごろよりようやく回復を開始し、骨切り後100日で元のレベルに到達した。20, 30, 40, 50, 60, 70日目において両群間に有意差を認めた。なお、対照側では、両群とも常に術前のレベルを推移し、両群間で有意差を認めなかった。

_ . pQCTを用いた骨密度測定

pQCTによる断層CT画像では、測定範囲内の新生骨は6mm延長群のほうが10mm延長群よりも顕著に多く観察された。対照側では両群間に差を認めなかった。定量解析より、骨面積、骨塩量では、皮質骨領域および皮質骨下領域における値が10mm群と比較し6mm群では平均値で2倍以上大きく、有意な差が認められた。また、骨密度は皮質骨下領域、海綿骨領域において6mm延長群で有意に大きい値を示した。(p<0.05)。対照側においては骨密度、骨面積、骨塩量は両群間で有意差を認めなかった。

_ . 骨組織形態計測

6mm延長群では10mm延長群と比べ多くの石灰化領域が観察された。解析の結果、6mm延長群のほうが10mm延長群と比べ、骨面積、骨梁幅が有意に大きく(p<0.05)、骨梁間隙は有意に減少していた(p<0.05)。骨梁数には有意差を認めなかった。なお、

対照側においては両群に有意差を認めなかった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計2件)

1 工藤淳夫 ビーグル犬における高気圧酸素療法の骨延長術での治療促進効果について 口腔病学会雑誌 75巻1号 P55-64 2007 査読有

2 青木朝里 イヌ顎裂モデルを用いた上顎歯槽骨延長術後の歯髄血流量及び硬組織変化の観察 口腔病学会雑誌 76巻1号 P37-44 2008 査読有

[学会発表](計1件)

1 青木朝里、川元龍夫、井口隆人、工藤淳夫、長濱浩平、馬場祥行、鈴木聖一、森山啓司 ビーグル犬歯槽骨延長モデルにおける組織修復様相の観察 第32回日本口蓋裂学会総会・学術集会 2008/5/28-29 広島

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

[その他]

6 . 研究組織

(1)研究代表者

長濱 浩平 (NAGAHAMA KOUHEI)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号： 60401368

(2)研究分担者

(3)連携研究者