原 著 論 文

卵巣摘出ラットにおける下顎骨実験的骨欠損の修復に関する研究

秋馬 秀成 坂口 邦彦 越智 守生 廣瀬由紀人 賀来 亨*

Healing of Experimental Bone Defects in the Mandible of Ovariectomized Rats

Hiddenari Akiba, Kunihiko Sakaguchi, Morio Ochi, Yukito Hirose and Tohru Kaku*

Abstract: The incidence of osteoporosis has been increasing with the increase in the number of elderly. Osteoporosis is a disease characterized by low bone mineral density (BMD), and the age of patients who require dental implant matches the age of patients with osteoporosis.

The influence of osteoporosis on the healing of an experimental bone defect in the mandible of rats was studied. Twenty-six-week-old female Sprague-Dawley rats underwent ovariectomy or a sham operation. Eight weeks after the operation, experimental bone defect was prepared in the left mandible of all rats by the guided bone regeneration (GBR) method. The left mandible of the rats was extracted at 2, 4 or 6 weeks after the operation, and the degree of bone healing in the experimental bone defect was evaluated by soft X-ray photography of the extracted left mandible followed by image analysis.

It was found that osteoporosis induced by ovariectomy has a negligible effect on the healing of experimental bone defect in the mandible. The result suggested that osteoporosis of the cortical area of the mandible is slow and less as compared with that of other long bones.

Key words: ovariectomy, rat, bone regeneration, mandible, experimental bone defect

I. 緒 言

高齢化社会の到来がいはれるようになり数年が経過しているが、今後も高齢人口の増加は確実である。そして今日、さらなる高齢化社会の進展に伴い、医療の場での骨粗鬆症の有病率の増加が重要な課題になっている¹⁾。骨粗鬆症は低骨量と骨組織の微小構造の破綻によって特徴づけられ、骨の脆弱性亢進と骨折危険率の増大に結びつく疾患と定義されている²⁾。なかでも、加齢に伴う骨の退行性変化によると考えられる骨粗鬆症を退行期骨粗鬆症と呼び、女性では閉経期を迎える50歳台から閉経後骨粗鬆症として、また男性でも70歳以降には老人性骨粗鬆症の合併症とし

て女性の数分の1程度の骨折罹患率を示すようになるといわれている³⁾。それとともに、歯科領域では高齢化に伴う問題点として欠損歯数の増加がある。平成5年の歯科疾患実態調査によると、一人平均喪失歯数は男女あわせて40歳で1.90本、50歳で4.87本となっており、女性だけをみると40歳で1.73本から50歳で5.49本と顕著に増加している⁴⁾。このように、加齢とともに欠損補綴を行う機会が多くなり、欠損補綴を必要とする患者が骨粗鬆症等の全身疾患を有する可能性が増大し、これらの疾患が治療に種々の影響を及ぼすことが考えられる。

予知性の高い欠損補綴治療を行うためには、重要な支持組織の1つである顎骨の状態を把握することが必要である。特に近年、欠損補綴の一方法として確立されてきた口腔インプラント治療を想定すると、インプラント埋入後の骨による初期固定が治療の成否に重要な要素であり^{5,6)}、また埋入後の骨治癒過程の良否が治療結果に与える影響は大きい。したがって、骨粗鬆症患者の顎骨における骨欠損の治癒過程を知ることは重要と考えられる。

骨粗鬆症の実験モデル動物として、閉経後骨粗鬆症様の

北海道医療大学歯学部歯科補綴学第II講座（主任：坂口邦彦教授）

*北海道医療大学歯学部口腔病理学講座（主任：賀来 亨教授）

Department of Fixed Prosthodontics, Health Sciences University of Hokkaido, School of Dentistry (Chief: Prof. Kunihiko Sakaguchi)

*Department of Oral Pathology, Health Sciences University of Hokkaido, School of Dentistry (Chief: Prof. Tohru Kaku)

平成11年7月21日受付

病態を示す卵巣摘出ラットが広く用いられている。卵巣摘出ラットを使用した閉経後骨粗鬆症に関する研究は比較的多く行われており、顎骨の観察も行われているが、実験動物の週齢、飼料などの条件がさまざま、その影響は十分に明らかにされていない⁷⁻¹⁵⁾。さらに、インプラント埋入窩のような骨欠損の治癒過程に関する研究はほとんど見当たらない。

そこで本実験では、閉経後骨粗鬆症患者におけるインプラント埋入窩の治癒過程を推測するためのモデル実験を試みた。生後 26 週齢の雌性ラットに卵巣摘出術を施し、卵巣摘出後 8 週間通常飼育して骨の粗鬆化を十分に発現させ、下顎骨下顎角部に実験的骨欠損を形成しその治癒過程を観察した。

II. 研究方法

1. 実験動物、材料

実験動物として Sprague-Dawley 系雌性ラット (体重 300~350 g) 80 匹を用い、生後 24 週齢で搬入後、本学動物実験センターにて 2 週間通常飼育〔固形飼料 MF (オリエンタル酵母社製)・水自由摂取、室温・湿度・照明時間一定下〕し、異常を認めなかったもの (生後 26 週齢) を以下の実験に使用した。ラットは卵巣摘出群 (以下 OVX 群)、偽手術群 (以下 Sham 群) 各 40 匹とした。

骨誘導再生 (guided bone regeneration, 以下 GBR) 膜には PTFE 膜 (polytetra-fluoroethylene 膜, FHLP 025 00, 孔径 0.5 μ m, Millipore 社製) を使用した。

2. 実験方法

1) 卵巣摘出術

OVX 群はネブタール (25 mg/kg) 腹腔内麻酔下で背側正中部を剃毛、消毒後、皮膚を切開した。切開部から左右腹側部に向かって軟組織を剥離、ほぼ真横に達したところで体幹皮筋を 5 mm ほど切開し、卵巣をその近位側に於いて絹糸で結紮した後、結紮部位の遠位で卵巣を摘出した。卵巣摘出後体幹皮筋を縫合し、反対側も同様に施術した後、皮膚を縫合した。Sham 群は開腹するまでとした。両群とも術後 8 週間通常飼育を行った。

2) 実験的骨欠損形成

両群とも 8 週間の通常飼育の後、つまり生後 34 週齢で実験的骨欠損の形成を行った。ネブタール (25 mg/kg) 腹腔内麻酔下で右側下顎角部を剃毛、消毒し、下顎下縁のやや上方で下顎下縁と平行に皮膚を切開し、次いで咬筋をメスで縦断切開し下顎骨を露出した。そののち、下顎骨に沿って下顎骨下縁方向に舌側まで咬筋を剥離した。下顎角部舌側に骨膜剝離子を挿入し、それに向かって下顎下縁から 1 mm ほど離れるように直径 3.5 mm のサージカルラウンドバーを使用し、インプランター II (京セラ社

図 1 Region of experimental bone defect
下顎骨実験的骨欠損形成部位

図 2 Time schedule of the experiment
実験スケジュール

製)で注水下、低回転 (800 rpm) で頬舌的に貫通した実験的骨欠損を形成した。欠損形成後周囲軟組織を可及的に骨膜ごと除去した。

実験的骨欠損は、軟組織の陥入を防ぐために頬舌側とも PTFE 膜で覆った。PTFE 膜は舌側から挿入し下顎下縁で折り返し頬側を覆い、特に固定せず咬筋でおさえるように緊密に縫合した (図 1)。実験期間は 6 週とした (図 2)。

ラットは実験的骨欠損形成時 (各群 8 匹)、実験的骨欠損形成後 2 週 (各群 5 匹)、4 週 (各群 8 匹)、6 週 (各群 11 匹) でネブタール腹腔内麻酔下で失血し、大腿骨、下顎骨を摘出し軟組織を除去した後 70% アルコールに浸漬固定した。実験期間別の動物数は一群 12 匹を用意し、骨の粗鬆化の認められないものを除いている。

3) 卵巣摘出による骨の粗鬆化の評価

卵巣摘出による骨の粗鬆化を評価するために、大腿骨の Bone mineral density (BMD) を測定した。

実験的骨欠損形成時、実験的骨欠損形成後 2, 4, 6 週で大腿骨を摘出し、その BMD を Dual Energy X-ray Absorptiometry (DEXA, QDR 1000 W, Hologic 社製) を使用し測定した。大腿骨は軟組織を除去し、アクリル板上に大転子部前面最突出点および遠位骨端部前面最突出点によって形成される平面が可及的に測定平面と平行になるように歯科用ユーティリティワックスで固定し、大腿骨全体を関心領域として ultra high resolution mode で測定を行った。

各実験期間の BMD について OVX 群、Sham 群間で F 検定により等分散を確認し、Student's t-test ($p < 0.05$, 0.01) にて有意差検定を行った。

4) 画像解析による骨再生率の評価

骨欠損部における治癒過程の評価を軟 X 線像の画像解析

により行った。

骨欠損形成直後、骨欠損形成後2, 4, 6週で摘出した下顎骨の軟X線撮影を行い、画像解析装置によって解析された骨欠損部の面積、再生骨の面積から骨再生率を算出し比較検討した。

画像解析用の軟X線撮影は池田¹⁶⁾の方法に従い、軟X線発生装置 Sofron Model SRO-M 50 D (綜研, 東京), 印画紙 (フジプロ WP FM 4, 富士写真フイルム, 東京) を使用し、撮影条件は管電圧 30 kVp, 管電流 4 mA, 照射時間 60 sec, 焦点・フィルム間距離 30 cm で行った。

得られた軟X線写真をスキャナーを使用し白黒 256 階調, 600 dpi でコンピュータに取り込み、画像解析ソフト (NIH image ver. 1.61) を使用して画像解析を行った。

骨欠損部面積は、実験的骨欠損形成直後の骨欠損部面積の平均を用い、骨欠損部に新たに形成された骨面積を骨再生面積とし、骨再生面積を骨欠損部面積で除したものを骨再生率とした (図 3)。

OVX 群, Sham 群間での骨再生率を比較し, Student's t-test ($p < 0.05$) にて有意差検定を行った。

5) 非脱灰研磨標本

実験的骨欠損部に再生された骨の性状を知る目的で、骨欠損形成後4週の非脱灰研磨標本を作製し観察を行った。

摘出した下顎骨の軟組織を可及的に除去し, Villanueva bone stain^{17,18)} を行い、通法に従いアルコール上昇系列で脱水し, MMA 樹脂包埋し, 前頭面で切断し実

$$\text{骨再生率} = \frac{\text{再生骨面積}}{\text{実験的骨欠損の面積 (平均)}} \times 100$$

図 3 Measurement method of bone healing rate
骨再生率の測定方法

図 4 Observation section of undecalcified histologic specimen of bone healing process
骨再生過程の非脱灰研磨標本による観察部位

験的骨欠損部の中央部で厚さ約 50 μm の研磨標本を作製した。研磨標本は透過光下, 蛍光下で既存骨から実験的骨欠損部に再生した骨組織の状態を観察した (図 4)。

III. 結 果

1. 卵巣摘出による骨の粗鬆化の評価

OVX 群大腿骨の BMD は, Sham 群と比較して骨欠損形成時と骨欠損形成後4週で危険率 1% 以下, 骨欠損形成後2週と骨欠損形成後6週で危険率 5% 以下で有意に低く, すべての観察期間において卵巣摘出による骨の粗鬆化が確認された。

実験期間中の経時的な大腿骨 BMD の変化をみると, Sham 群では骨欠損形成後4週まで BMD は変化せず, 骨欠損形成後6週で減少した。これに対し, OVX 群では逆に骨欠損形成後4週まで BMD は減少し, 骨欠損形成後6週で増加した (図 5)。

2. 画像解析による骨再生率の評価

骨欠損形成後2週では OVX 群 $52.3 \pm 7.5\%$, Sham 群 $45.1 \pm 14.2\%$, 骨欠損形成後4週では OVX 群 $74.0 \pm 16.2\%$, Sham 群 $71.8 \pm 21.7\%$, 骨欠損形成後6週では OVX 群 $77.9 \pm 17.6\%$, Sham 群 $82.5 \pm 12.3\%$ という結果で, 標準偏差も大きく, 骨再生率はすべての実験期間において OVX 群と Sham 群の間に有意差は認められなかった。

平均値は骨欠損形成後2週, 4週では OVX 群が Sham 群よりも骨再生率が高く, 骨欠損形成後6週では Sham 群が OVX 群よりも骨再生率の高い傾向が認められた (図 6)。

3. 非脱灰研磨標本の観察

Villanueva bone stain により, 透過像では石灰化骨は

図 5 The bone mineral density (BMD) measurement result
骨密度 (BMD) 測定結果
■: OVX, □: Sham

図 6 The bone healing rate measurement result

骨再生率測定結果

■: OVX, □: Sham

薄橙, 低石灰化骨は薄茶に染色され, 蛍光像では石灰化骨は緑, 低石灰化骨は橙に染色された。

透過像では, 既存骨から PTFE 膜によって周囲軟組織と隔離された範囲で内側に線維性結合組織が残存した骨の再生が確認された。

蛍光像では石灰化の進行が明確に観察でき, PTFE 膜のある外側では緑に染まった石灰化した部分が多く, 内側にいくに従い橙, 赤となり, 石灰化度が低いことが認められた。また, 中心部には線維性結合組織と思われるものが観察された。

今回の実験では GBR 法を応用したので, 骨の再生と石灰化は PTFE 膜の置かれた頬舌両側から進み, 再生した骨の中央部に線維性結合組織と思われるものが残存しているのが観察された。

OVX 群と Sham 群で再生骨の石灰化の進行程度に明らかな違いは認められなかった (図 7, 8)。

IV. 考 察

1. 実験動物および方法について

1) 卵巣摘出ラット

骨粗鬆症に関する研究を行うにあたって, 卵巣摘出ラットはエストロゲン欠乏型骨粗鬆症モデル動物として広く認められている。このモデルは, 卵巣摘出によってエストロゲンを人為的に欠乏させた結果, 骨吸収と骨形成がともに亢進し, 骨吸収量が骨形成量を上回るために骨量が減少する高代謝回転型の閉経後骨粗鬆症類似の症状を呈するモデルである^{19,20)}。

卵巣摘出実験でもさまざまな週齢のラットが使用されているが, ラットは 9 週から 14 週で成体期に入り²¹⁾, 骨の長さの成長の完了が 120 日, 骨端線の融合の完了が 150 日とされている²²⁾。そこで本実験では, 骨の成長が安定し成熟が完了し老化開始期にあると考えられる 26 週齢のラットに卵巣摘出術を施した。骨粗鬆症モデルとしては低 Ca 食によるものや, 卵巣摘出と低 Ca 食を併用した報告もみ

られるが^{7-9,12,23)}, 低 Ca 食を与えると骨軟化症をきたすと報告されている¹⁵⁾。したがって, 本実験では純粋にエストロゲン欠乏による閉経後骨粗鬆症を想定し, すべての実験期間を通じて飼料は通常固形飼料とした。また, 十分に卵巣摘出の効果が現れるまでの期間として 8 週間の通常飼育を行った後, 実験的骨欠損の形成, 治癒過程の観察を行った。

また, 摘出大腿骨の DEXA による BMD 測定により, 骨粗鬆化が起きていることが確認された。

2) 実験部位の選択

顎骨における骨欠損の治癒過程を観察するにあたり, 骨による治癒を観察するために歯牙の影響を受けない部位で画像解析により骨再生率を測定するため, できるだけ大きな規格化した実験的骨欠損を形成することが必要条件であった。歯牙の影響を受けない部位としては, 上顎骨では口蓋のみであり, 下顎骨でも歯槽部付近は臼歯の歯根, 切歯の影響を受けるので実験部位として使用不可能であり, 下顎角部を選択した。ラット下顎角部は, Dahlin^{24,25)}によって骨欠損の治癒を観察するのに用いられ, その有用性が評価されている。

本実験では下顎骨において下顎枝, 下顎骨下縁および下顎骨遠心の辺縁に接触せず, 軟 X 線写真上で明確な骨再生を確認できる直径 3.5 mm の規格化した実験的骨欠損を下顎角部に形成し画像解析を行った。

3) GBR 法

GBR 法は, 機械的バリアを用いて特定のタイプの組織の治癒を促進させるための部位を物理的に密閉し, 組織を誘導する組織誘導再生 (guided tissue regeneration, GTR) 法を発展させたもので, 骨を特異的に誘導する目的で行われている²⁶⁾。機械的バリアとしては, 現在 e-PTFE 膜 (Gore-Tex®, ジャパンゴアテックス社製) が主に用いられているが, 本実験では, 三浦²⁷⁾が骨誘導に適したと報告している 0.5 μm の孔径が選択でき, 生体内での安定が確認されている PTFE 膜を使用した。

秋馬²⁸⁾は, 本実験と同様に Sprague-Dawley 系雌性ラットの下顎角部に直径 3.5 mm の実験的骨欠損を形成し, PTFE 膜を使用して GBR 法を応用した群としなかった群の比較を観察期間 4 週間で行っている。その結果, GBR 法を応用した群に対し, GBR 法を応用しなかった群は実験的骨欠損部に軟組織が陥入し, 骨再生はほとんど認められず, PTFE 膜を使用した GBR 法が骨再生を誘導することを確認している。

本実験でも, GBR 法を応用したことにより周囲軟組織の影響を排除し, 顎骨骨欠損における骨の治癒過程を観察することが可能であり, 薬剤などの骨欠損の治癒に影響を与える因子の効果を観察するにも有用なモデルと考えられた。

図 7 Undecalcified histologic specimen OVX group (original magnification $\times 100$)
Villanueva bone stain (Bar=0.5 mm)
a : Transmission image, b : Fluorescence image
非脱灰研磨標本 OVX 群 ($\times 100$)
a : 透過像, b : 蛍光像

図 8 Undecalcified histologic specimen Sham group (original magnification $\times 100$)
Villanueva bone stain (Bar=0.5 mm)
a : Transmission image, b : Fluorescence image
非脱灰研磨標本 Sham 群 ($\times 100$)
a : 透過像, b : 蛍光像

4) DEXA による BMD 測定

DEXA は非破壊的に骨量, BMD の測定が可能であり, ラットの骨量, BMD の測定については, その灰分重量との相関性, 再現性が優れることが知られており²⁹⁻³¹⁾, ラットを使用した骨粗鬆症モデルの骨量の変化を評価するのに適している。

また, 卵巣摘出ラットの腰椎, 大腿骨, 脛骨, 頭蓋の DEXA による BMD の測定から部位により卵巣摘出による BMD の変化が異なることが報告されている^{29,31)}。そこで著者らは, ラット下顎骨の BMD の測定を試みたが, 本実験で使用した DEXA 装置ではラット下顎骨が菲薄なためその外形を本装置が認識することができず, BMD の測定が不可能だったので BMD の測定は大腿骨のみとした。

5) 画像解析による骨再生率の評価

摘出した下顎骨の軟組織を可及的に除去し軟 X 線写真を撮影したことにより, 残存する欠損部はバックグラウンドと同一になり新生骨との境界は明瞭であった。しかし, 既存骨と新生骨の境界は明確ではなかったため, 基準として実験的骨欠損形成時に摘出した下顎骨の実験的骨欠損部面積の平均を使用した。

軟 X 線写真を 600 dpi でコンピュータに取り込み, 画像解析ソフト NIH image にて解析を行ったが, これはソフト上で 1 mm² あたり約 285 pixels であり, 直径 3.5 mm の実験的骨欠損の画像解析に十分な解像度と考えられた。

画像解析は二次元の測定のため新生骨量の評価は行えなかったものの, 骨再生率を数値化することが可能であり, 実験的骨欠損部における骨再生面積を客観的に比較検討することができた。

2. 結果について

1) 卵巣摘出による骨の粗鬆化の評価

成熟ラットの卵巣摘出時における骨量, BMD の変化は卵巣摘出後 4~8 週で急激に減少し, その後はわずかな減少に転じて安定し, 同レベルを維持するか微増すると報告されている³²⁻³⁴⁾。本実験の OVX 群においても同様に, 卵巣摘出後 12 週 (38 週齢) まで BMD は減少していたが, 14 週 (40 週齢) で若干増加を示す同様の傾向が認められた。

一方, Sham 群では術後 12 週 (38 週齢) まで BMD は変化せず, 術後 14 週 (40 週齢) で減少する傾向を認めた。OVX 群と Sham 群における術後 14 週 (40 週齢) における傾向の差異については, 今後の研究が必要と思われる。

2) 画像解析による骨再生率の評価

卵巣摘出ラットにおける骨欠損の治癒過程を観察した報告は少なく^{8,10,14,35,36)}, 本実験のように実験的骨欠損を形成し, その治癒過程のみを観察した報告は見あたらなかった。遠藤⁸⁾は 8 週齢, Hsieh ら¹⁴⁾は 7 週齢のラットを用い

卵巣摘出と同時に上顎臼歯を抜歯し, 治癒過程を観察しているが骨形成に差は認められず, 遠藤⁸⁾が 12 週で骨髓腔の拡大が認められたと報告しているが, これは卵巣摘出の影響が十分に発現していなかったためと考えられる。また, 本橋ら³⁶⁾は 12 週齢のラットに卵巣摘出を行い, 3 週後に脛骨にインプラントを埋入し 24 週まで観察を行っているが, 4 週までは新生骨量の形成が活発で, その後海綿骨において 24 週まで対照群より速やかな骨梁の吸収を認め, 皮質骨では差がなかったと報告している。堀坂ら³⁵⁾は, 32~33 週齢のラットの脛骨にインプラントを埋入し, 4 週後に卵巣摘出を行い 1, 2, 4 カ月後に観察しインプラント体周囲の皮質骨には差は認められず, 海綿骨の骨量は減少すると報告している。吉本¹⁰⁾は, 8 週齢のラットに卵巣摘出を行い, 下顎下縁に骨欠損を形成し多孔性 hydroxy-apatite 顆粒を填入後その周囲の骨再生を観察し, 填入後 4~12 週で新生骨形成率が低下したと報告している。

本実験の結果, すべての実験期間において骨再生率は OVX 群と Sham 群で有意差は認められなかった。本実験で実験的骨欠損を形成したラット下顎角部はほとんどが皮質骨で占められており, 皮質骨は海綿骨と比較するとエストロゲンの影響を受けにくいと思われる。また, 咀嚼によって下顎骨には恒常的にメカニカルストレスが加わるため, 卵巣摘出による骨の粗鬆化の影響が减弱されていることが考えられた³⁷⁾。また統計的有意差は認められなかったものの, 骨欠損形成後 2 週, 4 週では OVX 群が Sham 群よりも骨再生率が高く, 骨欠損形成後 6 週では Sham 群が OVX 群よりも骨再生率の高い傾向が認められた。本橋ら³⁶⁾は, インプラント埋入後 1~4 週ではインプラント体周囲の新生骨梁の形成が活発であると報告しており, 本実験結果も類似した傾向を示したのと考えられる。閉経後骨粗鬆症では高代謝回転型であるため, 新生骨が形成されるとともに粗鬆化の傾向を認めるが, 骨欠損の治癒過程における新生骨の形成に関しては促進的に働く可能性を示唆するものと考えられる。

3) 非脱灰研磨標本の観察

今回の実験では, 骨の観察を明確に行うために GBR 法を応用したが, その影響で骨の石灰化は PTFE 膜の置かれた頬舌側から進み, 再生した骨の中央部に線維性結合組織と思われるものが残存しているのが観察され, OVX 群と Sham 群を比較して明確な違いは認められなかった。Villanueva bone stain により石灰化の進行は蛍光像でより明確に観察できた。PTFE 膜のある外側から石灰化が進行し, 内側にいくに従い石灰化度が低下していた。

OVX 群と Sham 群で, 実験的骨欠損形成後 4 週における再生骨の石灰化の進行程度に明らかな違いは認められなかった。

4) 骨粗鬆症における顎骨の状態と口腔インプラント

骨粗鬆症は大きく原発性と続発性に分類され, 原発性骨

粗鬆症には若年性と退行期性がある。加齢に伴う退行性変化が原因と考えられる骨粗鬆症は、退行期骨粗鬆症と呼ばれ、このなかに閉経後骨粗鬆症が含まれる。閉経後骨粗鬆症は女性において閉経に伴う体内のエストロゲンの急激な減少の影響により骨量が減少するものである。その仕組みは閉経前と比較して、骨吸収、骨形成ともに亢進するものの、骨吸収が骨形成を上回る高代謝回転型と呼ばれる状態と考えられている³⁾。閉経後骨粗鬆症による骨量の減少は海綿骨における骨梁の狭小化、骨梁の連続性の低下、皮質骨の海綿骨化、皮質骨厚の菲薄化として観察されるが、骨のリモデリングが活発な海綿骨で特に観察されやすいと報告されている³⁷⁾。

臨床報告ではパノラマX線写真の測定、骨格標本の測定から骨粗鬆症患者の下顎骨骨量は有意に低下すると報告されている³⁸⁻⁴⁰⁾。しかし、Robertsら⁴¹⁾、Daoら⁴²⁾、Fujimotoら⁴³⁾は骨粗鬆症患者に口腔インプラント治療を行った場合、特に問題なくオッセointegrationは得られたが、全く問題がないとはいいい切れず診断、治療方針に注意が必要であり、さらなる研究が必要と報告している。口腔インプラント治療の成否には、インプラント埋入後の骨組織による初期固定が重要な要素であり^{5,6)}、その良否が治療結果に与える影響は大きく、初期固定および埋入後の骨治癒が悪いことが予測されるならば、上部構造を装着するまでに通常より長い期間を置くなど、何らかの改善処置を行う必要があり、口腔インプラント治療を選択することが不可能な場合もある。これらの診断、治療方針の決定は初診時になされるものであり、他の全身疾患と同様に骨粗鬆症の口腔領域に与える影響を明確にすることが必要である。

本実験で閉経後骨粗鬆症患者に口腔インプラント治療を行った場合の、インプラント埋入窩における治癒過程を推測するため、卵巣摘出ラットの下顎骨下顎角部に実験的骨欠損を形成し、その治癒過程を観察したが、OVX群とSham群の間に明らかな差異は認められなかった。

V. 結 論

26週齢の雌性ラットに卵巣摘出を行い閉経後骨粗鬆症疾患モデルとし、下顎骨下顎角部に実験的骨欠損を形成しその治癒過程をOVX群とSham群で比較検討し、以下の結果を得た。

1. Sham群ではそのDEXA像より骨の成長の完了が認められ、また、経時的なBMDの変化を認めず、骨の改造現象が一定に維持されていた。

2. OVX群では各観察期間においてBMDがSham群より有意に低く、骨粗鬆症を発症していることが確認された。

3. 実験的骨欠損部の骨再生率測定結果から、OVX群

とSham群で差は認められなかった。

4. 非脱灰研磨標本の観察では、OVX群とSham群で骨の性状に明確な差異は認められなかった。

以上の結果から、26週齢のラットを卵巣摘出後8週間の通常飼育を行うことにより、理想的な閉経後骨粗鬆症疾患モデルが得られたが、その下顎骨下顎角部における実験的骨欠損の治癒過程では卵巣摘出による影響は観察されなかった。本実験で使用したラット下顎骨下顎角部はほとんどが皮質骨であるため、下顎骨骨欠損の治癒過程では他の長管骨と同様に皮質骨は閉経後骨粗鬆症の影響を受けないことが示唆された。したがって、閉経後骨粗鬆症患者に口腔インプラント治療を行う際には、可能なかぎりバイコロチカルにインプラント体を埋入し、皮質骨による十分な固定を得ることが必要と思われる。

本研究の要旨の一部は第97回日本補綴歯科学会学術大会（平成9年5月31日、長崎）において発表した。

本研究の一部は平成9年度文部省科学研究費補助金（奨励研究A、課題番号09771708）により行った。

文 献

- 1) 折茂 肇. 骨粗鬆症. からだの科学 195:21, 1997.
- 2) Kanis JA, Melton LJ 3rd, Christiansen C et al. The diagnosis of osteoporosis. J Bone Miner Res 9:1137-1141, 1994.
- 3) 細井孝之. 骨粗鬆症の病因、危険因子から見た成因. 日本臨床 56:1369-1373, 1998.
- 4) 歯科統計資料集編集委員会編. 歯科統計資料集1997・1998年版11, 東京:口腔保健協会, 1997.
- 5) Brånemark PI, Lindström J, Hallén U et al. Reconstruction of the defective mandible. Scand J Plast Reconstr Surg 9:116-128, 1975.
- 6) Brånemark PI. Osseointegration and its experimental background. J Prosthet Dent 50:399-410, 1983.
- 7) 石井貴三男. 成長期顎骨における実験的骨粗鬆症に関する研究—とくに歯槽骨について—. 九州歯会誌 40:530-554, 1986.
- 8) 遠藤 実. 卵巣摘出後の骨代謝異常に関する研究—脛骨の成長と抜歯創の修復過程について—. 岩医大歯誌 11:175-194, 1986.
- 9) 中尾利夫. 成長期顎骨における実験的骨粗鬆症に関する研究—とくに下顎頭の変化—. 九州歯会誌 41:46-67, 1987.
- 10) 吉本浩太郎. 実験的骨粗鬆症ラット下顎骨に対する多孔性Hydroxyapatite顆粒埋塞後の治癒過程に関する研究. 歯科学報 92:633-661, 1992.
- 11) 小林 博. 骨粗鬆症が顎骨などに及ぼす影響についての実験的および臨床的研究. 歯科学報 92:711-727, 1992.
- 12) 千葉光行. 実験的骨粗鬆症ラットの下顎骨の変化に関する研究. 歯科学報 95:1261-1289, 1995.
- 13) Elovic RP, Hipp JA, Hayes WC. Ovariectomy decreases the bone area fraction of the rat mandible. Calcif Tissue Int 56:305-310, 1995.

- 14) Hsieh YD, Devlin H, McCord F. The effect of ovariectomy on the healing tooth socket of the rat. *Arch Oral Biol* 40 : 529-531, 1995.
- 15) 石原 晃. 卵巣摘出ラットにおける上顎骨, 下顎頭および大腿骨の構造変化に関する比較組織学的研究. *補綴誌* 41 : 934-944, 1997.
- 16) 池田和博. 咬合支持と飼育飼料形態が下顎骨咬筋付着部に及ぼす影響. *補綴誌* 39 : 649-661, 1995.
- 17) Villanueva AR. A bone stain for osteoid seams in fresh, unembedded, mineralized bone. *Stain Technology* 49 : 1-8, 1974.
- 18) 今野俊幸, 高橋栄明. 非脱灰骨標本の作製法. 高橋栄明編, 骨形態計測ハンドブック 28-33, 新潟: 西村書店, 1983.
- 19) 伊沢義弘, 大沼規男, 日野修一郎ほか. 卵巣摘出ラットにおける骨代謝異常に関する研究. *骨代謝* 14 : 271-279, 1981.
- 20) 青柳真紀. 卵巣摘出ラットにおける骨量減少機序の解明とその抑制に関する実験形態学的研究. *歯基礎誌* 36 : 598-610, 1994.
- 21) 佐藤徳光. 動物実験の基本 38-39, 新潟: 西村書店, 1992.
- 22) 松岡 理, 村松恵美子. 実験動物からヒトへの外挿—その考察と資料— 34-51, 東京: ソフトサイエンス社, 1980.
- 23) 篠崎英一. 実験的骨粗鬆症に対する食飼の影響に関する研究. *九州歯会誌* 41 : 102-121, 1987.
- 24) Dahlin C, Linde A, Gottlow J et al. Healing of bone defects by guided tissue regeneration. *Plast Reconstr Surg* 81 : 672-676, 1988.
- 25) Dahlin C, Sandberg E, Alberius P et al. Restoration of mandibular nonunion bone defects. *Int J Maxillofac Surg* 23 : 237-242, 1994.
- 26) Dahlin C. Scientific background of guided bone regeneration. In : Buser D, Dahlin C, Schenk RK, editors, *Guided bone regeneration in implant dentistry* 31-48, Chicago : Quintessence, 1994.
- 27) 三浦留貴. 組織誘導再生法における膜の孔径が骨形成に及ぼす影響. *九州歯会誌* 48 : 716-734, 1994.
- 28) 秋馬秀成, 坂口邦彦, 越智守生ほか. 微線維性コラーゲン止血剤の歯科応用に関する研究—実験的骨欠損の治癒に及ぼす影響—. *補綴誌* 42・99 回特別号 : 156, 1998.
- 29) Nagashima H. Longitudinal study of in vivo bone mineral changes in rats using dual X-ray absorptiometry—Effect of ovariectomy and prednisolone—. *日整会誌* 67 : 1151-1161, 1993.
- 30) 中村利孝. 動物実験における DXA による骨観察法. *日骨形態誌* 4 : 7-11, 1994.
- 31) 永島英樹, 山本吉蔵, 岸本英彰ほか. 卵巣摘出ラットの骨量の DXA による計測. *Clinical Calcium* 4 : 1346-1351, 1994.
- 32) 一坂 章, 山室隆夫, 奥村秀雄ほか. 実験的骨粗鬆症における骨形成動態の検索 (第 2 報). *中部整災誌* 26 : 1434-1436, 1983.
- 33) Egrise D, Martin D, Neve P et al. Bone blood flow and in vitro proliferation of bone marrow and trabecular bone osteoblast-like cells in ovariectomized rats. *Calcif Tissue Int* 50 : 336-341, 1992.
- 34) 志賀俊樹. 骨粗鬆症ラットの骨折治癒過程に関する研究. *京府医大誌* 105 : 1279-1287, 1996.
- 35) 堀坂孝介, 蟹谷英生, Wigianto R ほか. 骨粗鬆症がインプラント周囲の骨組織に及ぼす影響について. *日口腔インプラント誌* 8 : 121-125, 1995.
- 36) 本橋征之, 代田達夫, 大野康亮ほか. 卵巣摘出ラットにおけるインプラント体周囲の骨反応の解析. *口科誌* 46 : 376-385, 1997.
- 37) 鶴上 浩, 中村利孝. 骨形成・吸収の平衡異常と骨構築. 野田政樹編, *実験医学増刊, 骨形成・骨吸収のメカニズムと骨粗鬆症* 130-135, 東京: 羊土社, 1998.
- 38) 田口 明, 末井良和, 大塚昌彦ほか. 顎骨骨量及び歯牙喪失に与える早期閉経の影響. *日骨形態誌* 6 : 235-241, 1996.
- 39) Kingsmill VJ, Boyde A. Variation in the apparent density of human mandibular bone with age and dental status. *J Anat* 192 : 233-244, 1998.
- 40) Kingsmill VJ, Boyde A. Mineralisation density of human mandibular bone : quantitative backscattered electron image analysis. *J Anat* 192 : 245-256, 1998.
- 41) Roberts WE, Simons KE, Garetto LP et al. Bone physiology and metabolism in dental implantology : Risk factors for osteoporosis and other metabolic bone diseases. *Implant Dentistry* 1 : 11-21, 1992.
- 42) Dao TTT, Anderson JD, Zarb GA et al. Is osteoporosis a risk factor for osseointegration of dental implants?. *Int J Oral Maxillofac Implants* 8 : 137-144, 1993.
- 43) Fujimoto T, Niimi A, Nakai H et al. Osseointegrated implants in a patient with osteoporosis : A case report. *Int J Oral Maxillofac Implants* 11 : 539-542, 1996.

著者連絡先: 秋馬 秀成

〒061-0293 北海道石狩郡当別町金沢 1757

TEL : 01332-3-1211

FAX : 01332-3-1427

E-mail : akiba@hoku-iryo-u.ac.jp