

# 骨粗鬆症モデルラットにおけるオッセオインテグレーション獲得とチタンの光機能化の効果

著者	煙山 修平
学位名	博士（歯学）
学位授与機関	北海道医療大学
学位授与年度	令和2年度
学位授与番号	30110甲第351号
URL	<a href="http://id.nii.ac.jp/1145/00064961/">http://id.nii.ac.jp/1145/00064961/</a>

# 論 文 要 旨

骨粗鬆症モデルラットにおける  
オッセオインテグレーション獲得と  
チタンの光機能化の効果

令和2年度  
北海道医療大学大学院歯学研究科

煙山 修平

## 【要旨】

### I. 緒言

骨粗鬆症は骨の脆弱化をもたらすことから、インプラント治療におけるリスクファクターであるとされている。チタンの光機能化処理は、骨-インプラント接触率や骨-インプラント結合強度を高めることがわかっている。そこで、本研究では、骨粗鬆症ラットモデルを用いて、卵巣摘出がオッセオインテグレーション獲得に及ぼす影響を調べるとともに、光機能化処理の有効性について検討することを目的とした。

### II. 材料および方法

#### 1. 試料の分析

フッ化水素酸と硫酸を用いて、二重に酸処理を施した純チタンのディスクを用いた。酸処理後、1 か月間暗所にて保存したものを対照群 (NA)、NA に対して使用直前に光機能化装置 (Affiny, ウシオ) を用いて 15 分間の短波長紫外線照射を行ったものを光機能化群 (PA) とした。

#### 2. 動物実験

円柱状のチタンを用い、前述のとおり NA、PA を準備した。8 週齢で卵巣摘出をした 14 週齢雌性 Sprague Dawley (SD) ラット (OVX ラット) と卵巣摘出をしていない 14 週齢雌性 SD ラット (Con ラット) を用いた。OVX ラットに対して、左右大腿骨遠心骨端から 9 mm の位置に NA、PA をそれぞれ埋入した (OVX-NA 群, OVX-PA 群)。また、Con ラットに対しては、同様の方法により、NA のみを埋入した (Con-NA 群)。なお、本実験は北海道医療大学動物実験委員会の承認を得て実施した (承認番号: 第 19-053 号)。

#### 3. 押し込み試験

埋入後 2, 4 週に摘出したインプラント体を含む大腿骨に対して、卓上試験機を用いて押し込み試験を行い、最大押し込み荷重を測定した。また、SEM を用いて押し込み試験後のインプラント表面を観察した。さらに、エネルギー分光分散分析法 (EDX) にてインプラント表面の元素分析を行った。

#### 4. マイクロ CT 解析

埋入後 4 週に摘出したインプラント体を含む大腿骨より得られたマイクロ CT データから骨密度 (BV/TV, %) および骨-インプラント接触率 (BIC, %) を求めた。

#### 5. ビラネバ・ゴールドナー染色による組織学的観察

埋入後 4 週に摘出した大腿骨の非脱灰研磨標本を作製し、ビラネバ・ゴールドナー染色を施し、光学顕微鏡を用いて観察した。

#### 6. 細胞培養実験

14 週齢の OVX ラット, Con ラットの大腿骨から採取した骨髄細胞から骨髄由来間葉系幹細胞 (BMSC) を分離培養し, OVX ラット由来の細胞は NA, PA の両方のチタンディスクに, Con ラット由来の細胞は NA チタンディスクにそれぞれ細胞を播種した。播種後 3, 14 日目に血球計算盤を用いて細胞数の測定を行い, 播種後 12 日目にアルカリフォスファターゼ (ALP) 染色を行った。

### III. 結果および考察

#### 1. 卵巣摘出による骨粗鬆症モデルラット

大腿骨の CT 画像では, Con ラットでは厚い皮質骨と層状で樹脂状の密な骨梁構造を呈していたのに対して, OVX ラットでは大腿骨近位部における皮質骨の菲薄化, 海綿骨の骨梁の減少が確認された。体重変化を比較した結果, 卵巣摘出後 2 週経過した 10 週齢以降で, OVX ラットの体重は Con ラットに比較して有意に増大した。これらの結果より, OVX ラットでは卵巣摘出によるエストロゲンの欠乏が, 骨粗鬆症に類似した病態を惹起させていることが確認された。

#### 2. チタンの光機能化

PA の水滴接触角は, NA に比較して有意に低い値を示したことから, 光機能化処理によりチタン表面の親水性が向上し, ぬれ性が回復していることを確認した。

#### 3. オッセオインテグレーション

埋入後 2, 4 週の押し込み試験において, 最大押し込み荷重は, OVX-NA 群が Con-NA

群に比較して有意に低い値を示し、OVX-PA 群が OVX-NA 群に比較して有意に高い値を示した。埋入後 2, 4 週の押し込み試験後のインプラント表面を SEM 観察ならびに EDX 分析した結果、OVX-NA 群に対して、Con-NA 群、OVX-PA 群にハイドロキシアパタイトに近似した組成を示す多くの骨様組織の付着を認めた。また、埋入後 4 週のマイクロ CT 解析において、BV/TV, BIC とともに、OVX-NA 群が Con-NA 群に比較して有意に低い値を示し、OVX-PA 群が OVX-NA 群に比較して有意に高い値を示した。埋入 4 週後の組織像では、OVX-NA 群、OVX-PA 群においてインプラント周囲に新生骨の形成がみられた。OVX-NA 群では、チタンと骨の間に軟組織の介在がみられた。以上のことから、卵巣摘出ラットにおいて、光機能化処理がインプラント周囲骨量を増加させ、骨-インプラント結合強度を増大させたと考えられる。

#### 4. 細胞培養実験

骨系細胞の細胞数、ALP 陽性率は、OVX-NA 群が Con-NA 群に比較して有意に低い値を示し、OVX-PA 群が OVX-NA 群に比較して有意に高い値を示したことから、卵巣摘出により BMSC の増殖・骨芽細胞への分化は低下するが、インプラントの光機能化処理により BMSC の増殖・骨芽細胞への分化は向上することが示された。

#### IV. 結論

これらの結果より、光機能化処理が卵巣摘出ラットの BMSC の増殖・骨芽細胞への分化を向上させることにより、インプラント周囲骨量を増加させ、骨-インプラント結合強度を増大させたという結論に至った。