

〔学位論文〕

低出力パルス超音波刺激が上顎洞底挙上術実験動物モデルの 新生骨様組織形成に与える効果

建部 廣明

北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系 クラウンブリッジ・インプラント補綴学分野

Effect of Low Intensity Pulsed Ultrasound Stimulation on Sinus Augmentation in Rabbits

Hiroaki TAKEBE

Division of Fixed Prosthodontics and Oral Implantology Department of Oral Rehabilitation,
School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

緒 言

口腔インプラント治療はオッセオインテグレーションの概念の確立により、非常に予知性の高い治療として従来の歯科治療に大きな変化をもたらしてきた。骨折治療を促進させる方法として低出力パルス超音波刺激 (Low Intensity Pulsed Ultrasound stimulations ; LIPUs) がDuarteら (1983) により報告され、整形外科領域では遷延癒合や偽関節の治療に応用されている。歯科領域でも、インプラント埋入後のLIPUs照射によるオッセオインテグレーションの早期獲得が報告されている。しかし、上顎洞底挙上術後の治癒期間短縮を目的とする報告は少ない。本研究では、LIPUsによる上顎洞底挙上術後の治癒期間短縮を目的とし、ウサギ鼻骨部での上顎洞底挙上術実験モデルにLIPUs照射することにより新生骨様組織面積の測定と細胞増殖動態の組織学的ならびに免疫組織化学的検索から、LIPUsが上顎洞底挙上術後の治癒に与える効果を検討した。

材料と方法

実験動物には、体重約2.5kg日本白色ウサギ (ホクドー、札幌) 60羽を用いた。実験部位を左右の鼻骨部とし、同部に5×10mmの骨窓を形成した。鼻腔粘膜を深さ10mmまで剥離し、左右粘膜挙上部に対してβ-tricalcium phosphate顆粒 (β-TCP顆粒, オスフェリオンG1-1, オリnpastelモバイオマテリアル, 東京) 250mgを填

入した。LIPUs照射装置にはBRソニック-Pro (伊藤超短波, 東京) を使用し、右側をLIPUs照射側、左側をLIPUs非照射側とした。術部外側皮膚上から振動周波数1 MHzと3 MHzを術翌日より2, 4, 8週にわたって毎日15分間照射した。その他のLIPUs照射条件については超音波出力240mW, パルス幅2.0msec, パルス周期10.0 msecの同一条件で行った。照射期間終了後、ウサギを安楽死させ、術部試料を摘出した。また、細胞増殖活性の検出のため、試料の一部に5-bromo-2'-deoxyuridine (20mg/kg, BrdU, Sigma-Aldrich, USA) を安楽死前に経耳静脈投与した。非脱灰研磨標本には塩基性フクシン・メチレンブルー重染色を、脱灰標本にはBrdU In-Situ Detection kit (BD Biosciences, USA) を用いて免疫組織化学染色を施した。新生骨様組織面積の計測は組織像の粘膜挙上範囲を頭頂部より5 mmの位置で上下に区分し、画像解析ソフト (Image J, NIH, Bethesda, MD, USA) にて各々の面積を測定した。さらに、免疫組織化学染色による細胞増殖動態を検討するため、BrdU標識細胞数と全細胞核数をカウントし、BrdU標識率 (%) を算出した。有意差検定は、分散分析を実施した後、Schefféの検定 ($p < 0.05$) を行った。

結 果

術後2週の塩基性フクシン・メチレンブルー重染色像では、上下両部ともに開窓部付近から既存骨と連続した骨組織が観察されたが、β-TCP顆粒間への新生骨様組織

受付：平成24年3月31日

の侵入はわずかししか認められなかった。実験群と対照群の新生骨様組織面積の比較では、振動周波数 1 MHz の上部で、実験群と対照群との間に有意な差が認められた。また、振動周波数 1 MHz と 3 MHz の新生骨様組織面積は、1 MHz の上部が 3 MHz の上部に比べ、有意に増加した。下部では 1 MHz と 3 MHz に有意な差は認められなかった。

術後 4 週の塩基性フクシン・メチレンブルー重染色による観察では、新生骨組織が既存骨と連続して認められ、 β -TCP 顆粒の吸収は挙上部内の中心部まで進んでいた。振動周波数 1 MHz 照射群では、上部下部とも既存骨と連続した骨組織が中心部まで認められ、対照群と比較して骨様組織像が多く、 β -TCP 顆粒の吸収はさらに進んでいた。実験群と対照群の新生骨様組織面積の比較では、振動周波数 1 MHz の上部、下部での実験群と対照群との間に有意な差が認められた。振動周波数 3 MHz では、上部、下部ともに実験群と対照群との間に有意な差が認められなかった。振動周波数 1 MHz および、3 MHz の新生骨様組織面積の比較では、振動周波数 1 MHz の上部、下部が 3 MHz の上部、下部に比べ、有意に増加した。術後 8 週の塩基性フクシン・メチレンブルー重染色で、さらなる新生骨組織像の増加と β -TCP 顆粒の吸収が観察された。また、新生骨様組織が幅広くなっていた。実験群と対照群の新生骨様組織面積の比較では、振動周波数 1 MHz の上部、下部と 3 MHz の上部の実験群と対照群との間に有意な差が認められた。振動周波数 1 MHz と 3 MHz の新生骨様組織面積の比較では、上部、下部ともに 1 MHz と 3 MHz の間に有意な差は認められなかった。BrdU 標識率の比較では、術後 2 週での振動周波数 1 MHz が、3 MHz、対照群に比べて有意に増加したが、振動周波数 3 MHz と対照群の間に有意な差は認められなかった。術後 4、8 週では、振動周波数 1、3 MHz と対照群の間に有意な差は認められなかった。

考 察

LIPUs 刺激により、振動周波数 1 MHz において、2 週の上部で実験群と対照群の新生骨様組織面積に有意な差が認められ、さらに 4、8 週では上部、下部ともに有意な差が認められた。一方、振動周波数 3 MHz では、実験期間を通して、実験群と対照群の間に有意な差は認められなかった。また、振動周波数の違いによる新生骨様組織面積の比較でも、2 週では上部に、4 週では上部、下部ともに振動周波数 1 MHz が有意に増加した。これらのことから、振動周波数 1 MHz の方が 3 MHz に比べ、LIPUs の到達深度が深いため、1 MHz の LIPUs 照射により新生骨様組織形成が促進したと推測される。また、細胞増殖動態の検索では、2 週での振動周波数 1 MHz のみが細胞増殖を促進させた。この結果から、振動周波数 1 MHz の LIPUs 照射により細胞の分化時期が早まったため、4、8 週での 1 MHz の新生骨様組織面積に有意な差を生じたと考えられる。

結 論

本研究により、上顎洞底挙上術後、早期の LIPUs 照射は治癒期間短縮に有効あることが示唆され、特に振動周波数 1 MHz の LIPUs 照射条件は、3 MHz に比較して、より治癒期間を短縮することが推察され、臨床応用の可能性が示唆された。



建部 廣明

平成19年3月 北海道医療大学歯学部歯学科卒業

平成24年3月 北海道医療大学歯学部歯学研究科博士課程修了