

1. プラズマアーク光源の使用によって光重合型GFRPの光硬化が大きくなる。
2. GFRPはポリエチレン繊維強化樹脂, 従来型築造用レジンに比較して有意に曲げ強さが大きい。
3. GFRPは従来型築造用レジンに比較して有意に圧縮強さが大きい。
4. ガラス繊維含有量の調整によって歯根象牙質に近似した弾性に調節できる。
5. ガラス繊維のシラン処理は光重合型GFRPの亀裂の発生および進展防止に有効である。
6. GFRP支台築造は金属支台築造に匹敵する破壊強度がある。
7. GFRP支台築造は金属築造に比較して歯根破折を起こさない。

以上より, 本実験で注目したGFRPは, 成形ポスト材料としての操作性を満たし, 歯根象牙質の弾性に近似した性質におよび金属に匹敵する機械的強さを有し, 歯根破折を防止できる支台築造材料としての臨床応用可能であることが示唆された。

氏名・(本籍)	今 井 佐和子 (北海道)
学位の種類	博士 (歯学)
学位記番号	甲 第107号
学位授与の日付	平成14年 3 月25日
学位授与の要件	学位規則第 4 条 1 項該当 (課程博士)
学位論文題目	ラット頭頂骨骨膜の病理組織学的研究—加齢および骨膜剝離・復位後の組織変化—
論文審査委員	主 査 教 授 有 末 眞 副 査 教 授 金 澤 正 昭 副 査 教 授 賀 来 亨

論文内容の要旨

【緒 言】

骨膜の骨芽細胞と石灰化基質内の骨細胞は細胞突起を介してネットワークを形成し, 骨組織の恒常性維持に関与しているとされている。骨膜の構造は一般に 2～3 層構造と理解され, 骨芽細胞や前骨芽細胞などの細胞成分が豊富な骨形成層とその外層の膠原線維を主体とした線維層から構成されている。

これまで骨膜に関する研究は, 軟骨性骨化の長管骨に数多く認められ, 現在の骨膜に関する基礎データになっている。しかし, 膜性骨化である頭蓋骨や下顎骨の骨膜研究は少なく, 特に膜性骨骨膜の加齢にともなう変化の報告はほとんど認められない。また, 口腔外科領域において, 手術に際し骨膜の剝離操作を行うことが多いが, 骨膜の治癒過程に関する研究は極めて少なく, 剝離後の骨膜修復過程に関しては不明な点が多い。

本研究は膜性骨であるラット頭頂骨を用いて, 4 段階

の生物学的ステージに基づき, 組織形態学的に観察し, 抗PCNA抗体を用いて骨膜細胞の増殖活性について検討し, 成体後期の40週齢ラットの剝離・復位後の骨膜の組織変化を病理組織学的および免疫組織化学的に観察評価した。

【材料と方法】

実験 1: ラット頭頂骨骨膜の加齢変化: Wistar系雄性ラットを用い, ラットの生涯区分に基づき幼若期 4 週齢 (体重: 98.9 ± 3.7 g), 成体初期12週齢 (461.4 ± 47.5 g), 成体後期40週齢 (625.0 ± 57.0 g), 老齢期70週齢 (571.1 ± 58.3 g) に分類し, 各々の頭頂骨骨膜を観察した。各週齢のラットは 4 %paraformaldehydeを用いて灌流固定後, 頭皮と頭頂骨を一塊に摘出した。10%ホルマリンで浸漬固定し, 10%蟻酸にて脱灰後パラフィン包埋し, 厚さ $4 \mu\text{m}$ の連続切片を作製し, 通法に従いヘマトキシリン・エオジン (H-E) 染色を行い組織学的に観察

した。また、増殖細胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen: PCNA) で免疫染色を行い骨膜細胞の増殖活性について検索し、各週齢の骨膜単位面積当たりの血管数および骨膜の厚さを各々計測した。また、40および70週齢に脂肪層を確認したため、骨膜の厚さに対する脂肪層の割合を計測した。

実験2: ラット頭頂骨骨膜剥離・復位後の組織変化: 成体後期に相当する40週齢 ($582.0 \pm 52.7\text{g}$) のWistar系雄性ラットを用いた。頭頂骨骨膜の剥離・復位は、Pentobarbital sodiumによる腹腔内全身麻酔下で頭頂部を消毒、剃毛後、頭頂部後方に10mmの横切開を加え、骨膜剥離子を用いて左右側頭筋付着部、頭頂骨鼻骨縫合部まで骨膜を剥離した直後に復位し、縫合する方法で行った。摘出は術直後、1, 3, 7, 14, 21日後とし、実験1と同様にH-E染色、PCNA染色を行い、骨膜の経時的な組織変化について観察した。

[結 果]

1. ラット頭頂骨骨膜の加齢変化

4週齢(幼若期): ラット頭頂骨骨膜(以下、骨膜)は細胞成分が豊富な骨形成層と幼弱な線維と多数の血管からなる線維層で構成されていた。PCNA陽性細胞は線維層の血管周囲の紡錘形から円形の細胞の核に認められた。単位面積当たりのPCNA陽性細胞率は $23.8 \pm 2.3\%$ 、血管数の測定結果は $12.6 \pm 3.6\text{本/mm}^3$ で、骨膜の厚さは $31.2 \pm 8.4\mu\text{m}$ であった。

12週齢(成体初期): 骨膜の骨形成層、線維層の2層構造が明瞭にみられ、骨芽細胞は4週齢に比べて胞体が大きく立方形を呈し、線維層には線維芽細胞が多数存在し、血管周囲には脂肪細胞が混在していた。PCNA陽性細胞は4週齢と同様の血管周囲の細胞に発現を認めたが、数は少なかった。単位面積当たりのPCNA陽性細胞率は $5.7 \pm 1.4\%$ 、血管数の測定結果は $8.6 \pm 3.3\text{本/mm}^3$ で、骨膜の厚さは $64.6 \pm 12.2\mu\text{m}$ であった。

40週齢(成体後期): 骨膜は菲薄化傾向を認め、骨芽細胞は扁平な形態を呈し、菲薄な線維層の外層には多数の脂肪細胞が配列し、脂肪層を形成していた。PCNA陽性細胞は血管周囲の細胞にわずかに認められた。単位面積当たりのPCNA陽性細胞率は $0.8 \pm 0.6\%$ 、血管数の測定結果は $5.0 \pm 1.1\text{本/mm}^3$ で、骨膜の厚さは $53.8 \pm 12.6\mu\text{m}$ であった。骨膜の厚さに対する脂肪層の割合は $55.5 \pm 13.4\%$ であった。

70週齢(老齢期): 骨膜は極めて菲薄化し骨形成層は一層で線状を呈していた。骨芽細胞は極めて扁平化しており、線維層の線維芽細胞は極めて少量であった。脂肪層には2~3層からなる脂肪細胞に満たされていた。また、

PCNA陽性細胞の発現は認めなかった。単位面積当たりのPCNA陽性細胞率は0%, 血管数の測定結果は $5.7 \pm 2.2\text{本/mm}^3$ で、骨膜の厚さは $52.0 \pm 11.1\mu\text{m}$ であった。骨膜の厚さに対する脂肪層の割合は $79.3 \pm 17.0\%$ であった。

2. ラット頭頂骨骨膜の剥離・復位後の組織変化

剥離・復位直後: 骨と骨膜間には血液が存在し、骨膜の2層構造は保たれていたが、大部分の骨芽細胞は消失していた。しかし、骨表層には骨芽細胞が残存している部分も認められた。

1日後: 骨膜と骨膜上方の疎生結合組織は浮腫性に肥厚し、骨膜の構造は不明瞭で、骨形成層は消失していた。線維層の線維間には赤血球および炎症性細胞の浸潤を多数認めた。

3日後: 疎生結合組織の肥厚程度に変化はなく、骨上には凝血塊が残存しており、線維層では炎症性細胞と未分化間葉細胞を多数認めた。また、骨表層の骨小腔には骨細胞が消失している部位を認めた。

7日後: 疎生結合組織の肥厚は減少傾向を認め、骨表層には胞体の大きな骨芽細胞が多数みられ、母骨に添加性が形成された類骨や骨を認める部位があり、線維芽細胞の増殖も認めた。

14日後: 疎生結合組織はほぼ正常に回復していた。新生骨は側頭筋付着部から矢状縫合部にかけて形成されており、骨上には胞体の大きな骨芽細胞が配列しており、新生骨の中には骨髄形成を認める部位もみられた。

21日後: 骨膜は正常構造を呈し、扁平な骨芽細胞と肥厚した線維層の2層に区分されていた。

PCNA陽性細胞は剥離・復位直後には認められないが、1日後に血管周囲の円形の細胞の核に陽性像を少量認め ($13.8 \pm 3.5\%$)、3日後に増加し ($31.3 \pm 1.8\%$)、7日後に同様の細胞と線維間の紡錘形の細胞に著明に認め ($37.6 \pm 10.3\%$)、新生骨骨髄細胞の一部にも陽性像が認められた。14日後には線維間にわずかに陽性細胞を認めたが ($1.8 \pm 0.3\%$)、21日後には陽性細胞は認められなかった。

[考察および結語]

実験1: ラット頭頂骨骨膜の加齢による組織形態変化

1. 4, 12週齢において骨膜は骨形成層、線維層の2層構造を示したが、40, 70週齢では、これに脂肪細胞による層が加わり、骨膜は骨形成層、線維層、脂肪層の3層構造を呈していた。

2. PCNA陽性細胞数は4週齢で最大値を示し、70週齢では認めなかった。

3. 骨膜内の血管数は4週齢で最も多く、その後の加齢

に伴い減少傾向を示した。

4. 骨膜の厚さは12週齢に最大値を示し、その後は加齢に伴い減少傾向を示した。

5. 骨膜中で脂肪層の占める割合は40週齢に比べ70週齢で有意に高かった。

以上より、4～12週齢では骨膜構成細胞は増殖が活発な時期にあるが、40～70週齢では休止期にあり、未分化間葉細胞から脂肪細胞への分化が優位となるステージであることが示唆された。

実験2：骨膜剥離・復位後の組織反応

1. 剥離・復位3日後、多数の未分化間葉細胞の出現を認め、7日後線維芽細胞、骨芽細胞ならびに脂肪細胞

への分化が認められた。

2. PCNA陽性細胞は1日後より増加し、7日後にピークを示し、21日後には認められなかった。

3. 21日後、骨膜は3層構造を回復し、骨芽細胞は扁平な形態を呈していた。

4. 剥離・復位操作後に形成される新生骨は膜性骨化を示し、軟骨性骨化は認められなかった。

以上より、骨膜剥離・復位後3～7日は未熟な骨膜細胞の増殖期、その後はこの増殖細胞の機能分化期を経て、21日後、骨膜の再生は、ほぼ完了することが明らかにされた。

学 位 論 文 審 査 の 要 旨

骨膜に関する研究は、従来軟骨性骨化を示す長管骨について行われたものが多く、現在の骨膜に関する知見と成っている。しかし口腔・顎・顔面領域を構成する膜性骨については、骨膜の骨形成能についての検索がわずかに認められるのみであり、不明の点が多いままとなっている。そこで申請者は、膜性骨骨膜の性状を明らかにする目的で、加齢変化ならびに骨膜を剥離し復位させた後の骨膜修復過程を病理組織学的に検討した。膜性骨骨膜の加齢変化の観察には、ラット頭頂骨骨膜を用い、幼若期4週齢、成体初期12週齢、成体後期40週齢、老齢期70週齢の各々の骨膜を組織形態学的に検索した。骨膜は12週齢までは骨形成層と線維層の2層構造を示し、骨芽細胞は胞体が大きく、PCNA陽性細胞率、線維層の厚さ、血管数は他の週齢に比べ高く、骨膜構成細胞は増殖活性期であることが示唆された。40、70週齢では骨芽細胞の扁平化、線維層の菲薄化が見られ、PCNA陽性率、血管数は減少し骨膜構成細胞は休止期にあり、骨膜は脂肪層

を加えた3層構造を呈し、未分化間葉細胞から脂肪細胞への分化が優位に働いているステージであると考えられた。骨膜剥離・復位後の骨膜修復過程の検索は、成体後期相当40週齢の頭頂骨骨膜を用い、剥離・復位直後、1、3、7、14、21日後の組織変化を経時的に観察した。剥離・復位3日後に未分化間葉細胞の増殖と7日後に線維芽細胞、骨芽細胞、脂肪細胞への分化を認め、PCNA陽性細胞も増加し、骨膜細胞の増殖・分化が最も活発な時期であると考えられた。21日後、骨膜は3層構造を回復し、骨芽細胞は扁平な形態を呈し、骨膜の修復には約3週間でほぼ完了することが明らかとなった。

以上のことから、本論文は、膜性骨骨膜の加齢変化および成体膜性骨骨膜の剥離による治癒過程を組織学的に解明し、骨膜研究に重要な基礎研究として寄与するところが大きく、審査の結果、学位授与に値すると判定した。