

Title	No. 1 2 : ラット頭蓋冠におけるフルバスタチンの骨形成促進効果
Author(s)	田辺, 耕士; 三浦, 直; 吉成, 正雄
Journal	歯科学報, 113(2): 202-202
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10130/3045">http://hdl.handle.net/10130/3045</a>
Right	

## No.11：骨治癒過程初期における低出力超音波パルス（LIPUS）の周波数の違いによる影響

門田和也<sup>1)2)</sup>，佐々木穂高<sup>1)2)</sup>，吉成正雄<sup>1)</sup>，矢島安朝<sup>1)2)</sup>（東歯大・口科研・インプラント）<sup>1)</sup>  
（東歯大・口腔インプラント）<sup>2)</sup>

**目的：**近年，インプラント治療において，治療期間の短縮を目的とした骨治癒の促進が重要な課題となっている。低出力超音波パルス（LIPUS）は，非侵襲的な物理刺激により骨の治癒を促進することが知られている。LIPUSの照射条件においては，強弱を示す出力においては至適条件があることが知られているが，深達度を示す周波数においては報告がなされていない。そこで今回，骨治癒過程におけるLIPUSの周波数の違いによる影響について検討を行った。

**方法：**10週齢の雄性Long-Evansラットの大腿骨に，直径1.5mmのラウンドバーを用いて骨欠損形成し，翌日から実験群としてLIPUS照射（出力30 mW/cm<sup>2</sup>，照射時間15分/日）の周波数を1.5MHzと3.0MHzの2群とし，非照射を対象群とした。術後3，5，7日目に $\mu$ -CTによる放射線学的，組織標本による形態組織学的，定量的RT-PCR法による分子生物学的に評価を行なった。

**結果および考察：** $\mu$ -CT所見では，3日例ではいずれも差が認められなかったが，5日例以降で対象群と比較して，照射群では海綿骨の欠損領域で不透過像がみられたが，周波数による違いはなかった。H-

E染色所見では，3日例で対照群の欠損部の全層に血餅がみられたのに対して，実験群では周波数1.5MHzでは中間層部，周波数3.0MHzでは浅層部の血餅は細胞が鬆疎な幼弱肉芽組織への置換が観察された。5日例では，対照群は欠損部界面からの類骨形成がみられるが，一部で血餅の残存が確認されたのに対して，実験群では全層で新生骨の形成がみられた。7日例では実験群は周波数3.0MHzと比較して周波数1.5MHzでは浅層部だけでなく深層部まで血管の増生が認められた。RT-PCR法による遺伝子発現の比較検討では，骨の分化マーカーであるOsteopontinは3，5日例，Osteocalcinは3日例で，照射群が対象群より発現が多く，未分化マーカーであるRunx2は，3日例で対象群と比較して発現が低かった。血管内増殖因子は，5日例では周波数1.5MHzで多く発現する傾向がみられた。

これらの結果より，骨の創傷治癒過程初期において，LIPUS照射による新生骨の形成促進や分化促進の効果が明らかとなった。一方，周波数の違いによる影響は組織形態学的な所見で差が一部で認められたが，遺伝子発現においては有為な差は認められなかった。

## No.12：ラット頭蓋冠におけるフルバスタチンの骨形成促進効果

田辺耕士，三浦直，吉成正雄（東歯大・口科研・インプラント）

**目的：**近年，高脂血症治療薬であるスタチン系薬剤の，骨形成の効果が報告されている。同薬剤がBone morphogenetic protein 2（BMP-2）を誘導するとの報告もあり，骨補填剤応用への期待が高まっている。本実験の目的は，ゼラチンハイドロゲルを担体とするフルバスタチンとの複合物を作製し，ラット頭蓋冠に埋入した時の骨形成の効果を検討することである。

**方法：**フルバスタチンとゼラチンハイドロゲル（Flu-GH）複合体の性状の検討：様々なゼラチン濃度のFlu-GH水溶液を作製し，遠心式フィルター（100 kDa，ビバスピ，GEヘルスケア）を用いて限外濾過を行った。得られたろ液中のフルバスタチン量を，紫外可視分光光度計（ultraspec 2100 pro，GEヘルスケア）にて測定を行った。

**動物実験：**ラット頭蓋冠内に，ゼラチンハイドロゲルとフルバスタチンから成るスポンジを埋め込み，治癒過程の経時的な観察を行った。5%塩基性ゼラチン溶液を凍結乾燥し，紫外線（254nm，2h）で

架橋したゼラチンハイドロゲルスポンジに，フルバスタチン溶液（1mM）を含浸させスポンジを作製した。SD系ラット（14週齢，n=10）の頭蓋冠に2つの欠損を作製し，右側を自然治癒のコントロール群，左側を実験群とした。術後，1，2，4週後に動物実験用マイクロCT（R-mCT，リガク社製）を用いて骨形成の経時的な観察と定量化を行い，併せて骨形成領域の病理組織学的観察も行った。

**成績および考察：**Flu-GH複合体には，ゼラチン1mg当り97.9 $\mu$ Mのフルバスタチンを担持できることが明らかになった。骨形成の定量解析と組織学的な観察の結果，観察した全てのラットで，ゼラチンハイドロゲルを担体とするフルバスタチンが投与された領域で，新生骨形成と骨形成量の増加が有意にみられた。ゼラチンハイドロゲルスポンジの残留は，術後14日及び28日も観察されなかった。これらの結果は，ゼラチンハイドロゲルを担体とするフルバスタチンとの複合物が，骨再生治療に有効な骨補填剤となる可能性を示した。