

Title	The Effect of Bisphosphonate on Bone Formation After Tooth Extraction in Ovariectomized Rats
Author(s)	蛭間, 信彦
Journal	歯科学報, 114(6): 640-641
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10130/3535">http://hdl.handle.net/10130/3535</a>
Right	

氏名(本籍)	ひるまのぶひこ 蛭間 信彦 (神奈川県)
学位の種類	博士(歯学)
学位記番号	第 2021 号(乙第 766 号)
学位授与の日付	平成26年3月5日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	The Effect of Bisphosphonate on Bone Formation After Tooth Extraction in Ovariectomized Rats <a href="http://dx.doi.org/10.2485/jhtb.22.493">http://dx.doi.org/10.2485/jhtb.22.493</a>
掲載雑誌名	Journal of Hard Tissue Biology 第22巻 4号 493-500頁 2013年
論文審査委員	(主査) 山本 仁教授 (副査) 東 俊文教授 阿部 伸一教授 井上 孝教授 柴原 孝彦教授

### 論文内容の要旨

#### 1. 研究目的

歯科医師が Bisphosphonate (BIS) を服用している患者の治療の際に把握しておくべきリスクとして、Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw (BRONJ) があげられる。しかし、未だ BRONJ の発生機序には不明な点が多い。本研究は BRONJ の発生機序を明らかにする目的で卵巣摘出ラットをエストロゲン低下による骨粗鬆症モデルラットとし、BIS 投与が抜歯後の治癒過程、特に新生骨形成にどのような影響を及ぼすかを検討した。

#### 2. 研究方法

薬剤として Alendronate を用いた。9 週齢の雌 Wistar 卵巣摘出ラット(6 週齢時卵巣摘出術施術)を Control 群(生理食塩水投与群)と BIS 投与群の二群(各条件 6 匹)に分け、上顎第二臼歯を抜去した。その後、一定期間経過後に灌流固定を施し、上顎骨を一塊として摘出した。EDTA による脱灰後パラフィン包埋し、抜歯窩前後の臼歯を含む連続切片を作製した。H-E 染色および酒石酸耐性酸ホスファターゼ染色を行い、新生骨形成状態・破骨細胞の数・形態を観察した。また、非脱灰試料を作成し micro-CT を用いて新生骨の骨量を測定した。さらに研磨標本作製し、コンタクトマイクロラジオグラフィー(CMR)を撮影した。

#### 3. 研究成績および結論

抜歯後 1 週間では、両群とも抜歯窩内に肉芽組織の形成がみられ、4 週間には新生骨の形成が認められた。しかし BIS 群では破骨細胞に核の濃縮、などの像が観察され、また骨表面からの乖離する細胞が増加していた。また抜歯後の新生骨形成量は両群とも経時的に増加していたが、BIS 投与群のほうが Control 群よりも明らかに少なく、鬆粗であった。以上の結果から、BIS は抜歯後の治癒の際に早期の段階で抜歯窩内の新生骨の形成を抑制し、密度の低い骨梁構造や破骨細胞の異常が BRONJ の炎症の波及に影響を及ぼすと考えられた。

## 論文審査の要旨

歯科医師が Bisphosphonate (BIS) を服用している患者の治療の際に把握しておくべきリスクとして、Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw (BRONJ) があげられる。しかし、未だ BRONJ 発生機序には不明な点が多い。本研究は卵巣摘出ラットに抜歯を行い、抜歯窩の治療過程に BIS がどのような影響を及ぼすかを検索した。6 週齢雌性ラットに卵巣摘出術 (OVX) を施した後、9 週齢から週一回 BIS の腹腔内投与を行った。10 週齢時に抜歯し、1, 2, 4 週間経過後に試料を作成した。脱灰試料はパラフィン切片を作成し、H-E 染色および酒石酸耐性酸ホスファターゼ (TRAP) 染色を行った。非脱灰試料は micro-CT を用いて新生骨の骨量を測定し、その後研磨標本を作製し、コンタクトマイクロラジオグラフィ (CMR) を撮影した。

その結果、抜歯 1 週間後の新生骨形成量は Control 群より BIS 群のほうが明かに少なく、CMR でも石灰化の低い骨が少量みられたことから、BIS が抜歯窩治療の早期の段階で抜歯窩内の新生骨形成を阻害していることが示唆された。また、BIS 群では新生骨梁のリモデリングが阻害され、既存骨との間に比較的明瞭な境界が観察された。さらに抜歯窩内の骨梁は鬆粗で、肉芽組織様構造も多くなった。それにより一旦炎症が起きると短時間で広範囲に拡大し、BRONJ を誘発する原因となる可能性が示唆された。破骨細胞では BIS 投与により核濃縮や骨面からの遊離した像が観察され、BIS による破骨細胞の機能低下が示唆された。

本審査委員会では主として 1. コントロールを OVX ラットとし、Wild type を用いなかった理由、2. 抜歯部位を上顎第二臼歯に設定した理由、3. BIS として Alendronate を選択した理由、4. 骨表面から遊離した TRAP 陽性細胞についての解釈、5. BIS の応用と遊離 TRAP 陽性細胞の関係について、の質問がなされた。これらの質問に対して 1. 本研究では、BIS の作用とエストロゲン欠乏との関連性を主題としているため、コントロールを OVX ラットとした。2. 上顎第一臼歯や下顎の第一臼歯、第二臼歯では抜歯手技が困難で、抜歯操作に伴い炎症が誘発されて安定した実験結果を得られることが困難であったため、上顎第二臼歯を対象とした。3. 第 1 世代ではあるが代表的な薬剤としてこれまで多く使用され、過去の文献も多く充分データが蓄積されているので Alendronate を選択した。4. 本実験では骨表面との間に細胞が存在するものを遊離した TRAP 陽性細胞と解釈していたが、その中にはマクロファージが含まれる可能性もあるため、マクロファージに特異的な抗体を用いた免疫染色を行うなどの実験を今後行う予定である。5. 使用薬剤、各種条件は異なるが、BIS 投与により骨面から遊離した破骨細胞が増加するという報告があり、本研究の結果も同様であった、との回答があった。この他、実験スケジュール、論文中の用語の解釈などについての指摘があった。他、本研究をもとに臨床上注意する点や、今後も実験を継続していく上で留意する点についての討論があった。

本研究で得られた結果は、今後の歯学の進歩、発展に寄与するところ大であり、学位授与に値するものと判定した。