

氏 名 (本 籍) 猪 田 浩 理 (大阪府)

学 位 の 種 類 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 博 士 (論) 第 3 4 2 号

学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当

学 位 授 与 年 月 日 平 成 1 9 年 3 月 2 6 日

学 位 論 文 題 目 rh-BMP2-induced ectopic bone for grafting critical size defects: a preliminary histological evaluation in rat calvariae
(ヒトリコンビナント BMP-2 に誘導された移植骨ーラット頭蓋骨骨欠損部移植における病理組織学的検討ー)

審 査 委 員 主 査 教 授 陣 内 皓 之 祐
副 査 教 授 松 末 吉 隆
副 査 教 授 小 笠 原 一 誠

論文内容要旨

*整理番号	346	(ふりがな) 氏名	いのだ ひろさと 猪田 浩理
学位論文題目	rh-BMP-2-induced ectopic bone for grafting critical size defects: a preliminary histological evaluation in rat calvariae (ヒトリコンピナント BMP-2 に誘導された移植骨—ラット頭蓋骨骨欠損部移植における病理組織学的検討—)		
<p>[研究目的]</p> <p>骨移植は腫瘍切除後や外傷後に生じる骨欠損を修復する方法の一つとして有用である。これまで用いられてきた骨移植材料としては、他家骨、人工材料、自家骨が代表的である。他家骨は抗原性が強くまた、未知のウイルス感染の危険性がある。また、人工材料は生体にとってはあくまでも異物であり、組織親和性に劣っている。これらに対して自家骨は、組織親和性が良好で、最も安全性が高く、骨移植材として最良の条件を備えているが、骨採取に際して生体の健全部を損傷しなければならないことが大きな欠点である。そこで自家骨と同等の組織親和性と安全性を有し、かつ可能な限り、低侵襲に採取できる移植骨を獲得することが課題となる。</p> <p>Bone Morphogenetic Protein: 骨形成タンパク (以下 BMP とする) は骨の発育期や骨折後の硬組織修復に大きな役割を果たすと共に、スーパーファミリーを形成しており、その中で特に BMP-2 は、未分化間葉系細胞を骨芽細胞に分化誘導する能力に優れていることから注目を集め、その臨床応用が大きく期待されている。</p> <p>本実験では、BMP-2 の骨誘導能を利用して筋組織内の細胞から骨組織を誘導し (誘導した骨組織を以下、Tissue Engineered Bone: TEB と称する)、この骨組織の移植骨としての有用性を検討することを目的とし、TEB、自家骨および他家骨 (凍結処理して抗原性を低くした他家骨) の 3 群において、各移植骨を骨欠損部に移植し母床骨と移植骨の間隙に形成される新生骨の形成速度と形成量を測定し比較検討した。</p> <p>[方法]</p> <p>実験動物にはウイスター系ラットオス、計 45 匹を使用した。実験群は TEB を移植した群 (以下 TEB 群とする)、自家骨を移植した群 (以下自家骨群とする)、凍結処理した他家骨を移植した群 (以下他家骨群とする) の 3 群を設定した。</p> <p>TEB 群の移植骨は、4 週齢時に 50 μg の BMP-2 を浸透させたゼラチンスポンジを凍結乾燥処理後に腹直筋内に移植して 7 週間後 (11 週齢時) に誘導された TEB を採取し、トレフィンバー (直径 6 mm) でくりぬいて作製した。採取時の TEB 辺縁は皮質骨で構成され、中心部には骨髓成分と脂肪髓成分が混在しており、担体として使用したゼラチンスポンジの残存は認められなかった。TEB は腹直筋内から採取した即日に同径のトレフィンバーを用いて同一ラットの頭蓋骨に形成した骨欠損部に移植した。</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

自家骨群においては、TEB 群と同様の方法で頭蓋骨に骨欠損部を形成し、同径のトレフィンバーを用いて同一ラットの頭蓋骨の別部位から採取した自家骨を形成した骨欠損部に移植した。

他家骨群においては、ラット頭蓋骨から採取した骨片（他家骨）を -80°C で凍結処理して前述の2群と同様の方法で形成した骨欠損部に移植した。

すべての群において、移植骨の頭蓋骨骨欠損部への移植手術は11週齢時に行った。術後3週、6週、9週に屠殺を行い、頭蓋骨を標本として採取し、脱灰処理した後にホルマリン固定、HE染色標本を作製した。この標本を用いて顕微鏡視下に母床骨と移植骨の間隙における新生骨形成量を計測し、統計学的処理を行った。

[結果]

他家骨群の術後3週に母床骨と移植骨の間隙に軽度の炎症反応を認めた以外は明らかな炎症反応は認めなかった。

新生骨形成量は、他家骨群においては、術後3週と6週に変化はなく、術後9週において術後6週より有意に増加するのみであった。

自家骨群においては、随時増加を認め、術後3週、6週、9週において他家骨群より有意に大きな形成量を示した。

TEB 群においては、随時増加を認め、術後3週、6週、9週において他の2群よりも有意に大きな形成量を示した。

[考察]

骨欠損部を補填する移植骨は、自家骨、他家骨、人工生体材料などが使用されてきたが、自家骨には抗原性がなく、最も臨床成績が良いことから理想的な移植骨である。本実験結果において、自家骨群と他家骨群を比較すると、新生骨の形成速度と形成量において自家骨群が他家骨群を上回ったことは、新生骨の形成速度と形成量には、抗原性の有無が大きな影響を与えることを示唆するものと考えられた。

一方、自家骨とTEBは共に同一個体由来の組織であり、両者には抗原性はないものと考えられる。自家骨群とTEB群の両群は、移植後、共に順調な新生骨形成を示したが、その速度と形成量はTEB群が自家骨群を上回った。この理由としては今回作製したTEBは、骨髄成分を豊富に含んでいたことから、未だ石灰化途上の幼若な骨組織であったと判断され、幼若骨組織は、前骨芽細胞形成が活発であり、前骨芽細胞はBMPなどの骨形成因子を放出するとされていることから、TEBの内部に多量に存在するBMPをはじめとする様々な骨形成因子の働きが新生骨形成の速度と形成量に大きく影響したものと考えられた。

[結論]

ラット腹直筋内にBMP-2を移植して作製したTEBは、同一個体の頭蓋骨に形成した骨欠損部に移植した場合、自家骨や他家骨（凍結処理）よりも速やかで、良好な新生骨形成を促す移植骨であることが確認された。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	346	氏名	猪田 浩理
(学位論文審査の結果の要旨)			
<p>BMP は異所性骨形成誘導を行うタンパクとして知られている。その性質を利用してラット腹直筋にヒトリコンビナント BMP2 を投与して異所性骨を形成した。これを頭蓋骨に形成した骨欠損部に移植した。同様に移植した自家骨、凍結処理他家骨と比較して病理組織学的に検討を行った。結果として、ヒトリコンビナント BMP2 を用いて作成した移植骨が自家骨、凍結処理他家骨より良好な母床骨からの新生骨形成を促した。ヒトリコンビナント BMP2 を用いて作成した移植骨が母床骨から旺盛な新生骨形成を促した背景には、この骨が抗原性の低さを有するとともに、骨組織として未成熟であり、内部に存在する前骨芽細胞が放出する細胞成長因子が関与していると考えられた。</p> <p>本研究は BMP を利用して自家生体内細胞から移植骨を誘導形成することが可能であり、またその移植骨を骨欠損修復に利用することは従来臨床で行われている自家骨移植よりも迅速な治癒を促進させる方法であることを示唆したもので、博士(医学)授与に値するものと認める。</p>			
(平成19年 2月13日)			