

# 学位論文要旨

氏名 田澤 諒



論文題目

「マウス骨移動術モデルにおける BMP-2 含有人工コラーゲンゲルの有効性」

指導教授承認印

高相 翔士



### 【序論】

重度外傷で生じる巨大骨欠損は極めて難治性であり、治療には創外固定器を用いた骨移動術が行われている。自家組織を犠牲にすることなく骨再建可能な優れた治療法であるが、創外固定器装着は長期間にわたることや骨癒合不全を生じる場合がある。そのため治療期間の短縮と骨癒合促進法の開発が望まれている。これまでに骨欠損部の新生骨形成は骨移動速度の最適化により促進されることが報告されているが、移動骨片の接合部である docking site の骨癒合と骨移動速度の関連性は明らかになっていない。

米国では骨形成因子(BMP-2; Bone morphogenetic protein-2)が脛骨開放骨折治療や脊椎手術において臨床応用されている。またウサギ骨移動術モデルにおいて、BMP-2 の複数回投与により骨欠損部の新生骨形成と docking site の骨癒合が促進されることが報告されている。しかし、頻回の BMP-2 投与は異所性骨化や創部離開といった合併症を生じる可能性がある。我々は過去に bFGF 含有人工コラーゲンゲルがマウス大腿骨骨折モデルの骨癒合を促進することを明らかにしてきた。そこで、本研究ではマウス骨移動術モデルを用いて骨移動速度と docking site の骨癒合の関連性と BMP-2 含有人工コラーゲンゲルによる骨癒合促進法の有効性を検討した。

### 【方法】

6 カ月齢雄性 C57BL/6J マウスの右大腿骨に骨移動可能なマウス専用創外固定器 (Segmental MouseDis, RISystem AG, Switzerland) を装着し、大腿骨の近位側を骨切りして移動骨片と大腿骨中央に 2 mm の骨欠損を作製した。骨移動させない CONT 群、1 日 0.2 mm の移動速度で 10 日間骨移動させる 0.2 群、1 日 1.0 mm の移動速度で 2 日間骨移動させる 1.0 群、術中骨欠損部に BMP-2 含有人工コラーゲンゲルを投与し、1.0 群と同様に 1 日 1.0 mm の移動速度で 2 日間骨移動させる 1.0/BMP-2 群を各 8 匹ずつ作製した。骨移動は術後 2 日目からおこなった。術後に軟 X 線撮影をおこない、骨欠損修復過程を観察した。術後 8 週でマウスを屠殺し、 $\mu$ CT を撮影して骨欠損部と docking site の骨癒合および、骨欠損部の新生骨の骨量、骨塩量を評価した。 $\mu$ CT 撮影後、パラフィン薄切切片を作製し、HE 染色で新生骨と docking site を評価した。

## 【結果】

軟 X 線像で 0.2 群と 1.0/BMP-2 群の骨欠損部において術後 4 週で淡い新生骨形成を認め、術後 8 週で consolidation を認めた。一方で、CONT 群と 1.0 群の骨欠損部では新生骨形成は認めなかった。μCT 像でも同様に、術後 8 週において 0.2 群と 1.0/BMP-2 群では良好な新生骨形成を認める一方で、CONT 群と 1.0 群では新生骨形成は認めなかった。新生骨領域において、0.2 群は骨量、骨塩量ともに CONT 群と比較して有意に高値であり（骨量,  $p < 0.001$ ; 骨塩量,  $p < 0.001$ ）、骨癒合も 7/8 例に認めた。一方で 1.0 群は骨量、骨塩量ともに CONT 群と比較して有意差は認めず（骨量,  $p = 0.246$ ; 骨塩量,  $p = 0.098$ ）、骨癒合もわずか 2/8 例に認めるのみであった。docking site においては 0.2 群で 4/8 例、1.0 群で 5/8 例に骨癒合不全を認めた。一方で、1.0/BMP-2 群は骨量、骨塩量ともに CONT 群と 1.0 群と比較して有意に高値であり（骨量,  $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ; 骨塩量,  $p < 0.001$ ,  $p = 0.007$ ）、骨欠損部と docking site とともに全例に骨癒合を認めた。HE 染色像で新生骨領域において 0.2 群と 1.0/BMP-2 群では骨梁の形成と骨皮質の連続性を認めた。一方で CONT 群と 1.0 群では線維性組織や脂肪組織が形成され、骨皮質の連続性は認めなかった。docking site においては、1.0/BMP-2 群では骨皮質の連続性を認める一方で、0.2 群と 1.0 群では線維軟骨組織の介在を認め、骨皮質の連続性は認めなかった。

## 【考察】

骨移動速度と新生骨形成について、イヌ骨移動術における最適な骨移動速度は 1 日 1.0 mm で、1 日 0.5 mm の移動速度では新生骨形成は未熟であり、より早い 1 日 2.0 mm では線維性組織のみ形成されたという報告がある。またヒトにおいても骨移動に長期を要すると骨片端に線維軟骨組織が形成され、docking site の骨癒合不全を生じることや、骨癒合不全は 17% に生じるといった報告がある。本マウス研究でも骨移動速度の最適化により骨欠損部に良好な新生骨形成を認めた一方で、骨移動わずか 2 日間で docking させ単純骨折の条件に近づけた群でも docking site では高率に骨癒合不全を認めた。このことから docking site の骨癒合は骨移動速度の最適化のみで解決できない可能性が示唆された。

米国では BMP-2 は臨床応用されており、脛骨開放骨折の骨癒合率を上昇させることや、脊椎手術において自家骨移植よりも良好な骨癒合率であると報告されている。本研究でも骨移動術に BMP-2 含有人工コラーゲンゲルの単回投与を併用することで、より早く骨移動を完了させた場合でも骨欠損部と docking site とともに良好な骨癒合を得ることができた。このことから、本方法は巨大骨欠損治療において治療期間を短縮し、かつ骨癒合を促進させ有用である可能性が示唆された。