

中村正也論文内容の要旨

学 位 論 文

The effect of the atelocollagen matrix and bFGF on bone regeneration in defects of the calvaria of rats

ラット頭蓋骨骨欠損内の骨新生に対するアテロコラーゲンと bFGF の効果

中村 正也 小林 一夫 平野 明喜

European Journal of Plastic Surgery 28 巻 4 号 517-222 2006 年

長崎大学大学院医学研究科外科系専攻
(指導教授： 平野明喜教授)

【緒言】膜様骨である頭蓋顔面骨は線維性結合組織から軟骨性骨化を経ず直接に骨が形成され、骨折の治癒過程も同様の機序により進行すると考えられる。コラーゲンから抗原決定基を除いて作られたアテロコラーゲンは生体内で血管や細胞をその構造中に誘導し生体組織に置換される。そこで、頭蓋骨に作成した骨欠損内に線維性結合組織類似のアテロコラーゲンを挿入すれば骨誘導の場となり得るのではないかと考えた。

本実験では構造の異なる 2 種のアテロコラーゲンをを用い、これらをラット頭蓋骨に作成した骨欠損に挿入して骨形成に対する効果を比較し、重合体間の架橋数がアテロコラーゲン内への細胞の遊走に影響し骨誘導に差を与えるかどうかを検討した。今回用いたのは長時間熱脱水とグルタルアルデヒドによる強固な架橋を行い生体内での安定性を高めたアテロコラーゲンと短時間熱脱水による弱い架橋を行って細胞親和性に優れるアテロコラーゲンの 2 種である。また、アテロコラーゲンに骨芽細胞・軟骨芽細胞の増殖因子としても知られる線維芽細胞増殖因子(bFGF)を注入し、bFGF の骨新生に対する効果についても検討を加えた。

【対象と方法】10 週齢・350g の雄の Wistar 系ラット 60 匹を用い、頭頂骨にキャリパーで計測して $1 \times 1 \text{ cm}^2$ の全層骨欠損を作成した。

実験 1： ラット 36 匹を 12 匹ずつの 3 群に分けた。第 1 群では骨欠損部に長時間熱脱水とグルタルアルデヒドによる架橋を施したアテロコラーゲン(コーワ、ネオマトリックス) (以下、基質 1 と略す)、第 2 群には短時間熱脱水による架橋を施したアテロコラーゲン

(テルモ、テルダーミス)(以下、基質2と略す)を挿入した。第3群はコントロールとして何も挿入しなかった。

実験2: 基質2を用いた実験系にbFGFの投与を行った。ラット24匹を12匹ずつの2群に分け、第1群にはアテロコラーゲン内にbFGF50 μ gを注入し、第2群では30 μ gを注入した。実験1の第2群をコントロールとした。

実験1・2とも2・4・8週後に各群4匹ずつを屠殺した。骨欠損部を含む頭頂骨を皮筋層・骨膜・硬膜と共に摘出し、dichroma scanにより骨欠損内の骨塩量を測定した。次に矢状方向の切片を作り、正中部の切片をHE染色してdigitizerで骨欠損内の骨新生面積を計測した。得られた骨塩量と骨新生面積について各群の平均値を求め、2元配置分散分析とTukeyの多重比較を行い $p<0.05$ を有意として判定した。

【結果】実験1: コントロールおよび基質1挿入群では2・4・8週を通じて骨新生が欠損部辺縁に限られていた。基質2挿入群では、2週で疎なコラーゲン線維間に血管新生と網状の骨新生が見られ、4週で骨欠損中央にも広範な島状の新生骨を認めたと、8週で骨欠損中央の新生骨は減少した。骨塩量測定では、基質2挿入群は4週で有意に増加し、コントロール・基質1に比べ有意に高かった。しかし、8週で3群間に有意差は無くなった。骨新生面積の測定では、基質2は4週で有意に増加してコントロール・基質1に比べて有意に高かった。8週で有意に減少したもののコントロールに比べると有意に高かった。

実験2: 2週ではbFGF30 μ g投与群・50 μ g投与群とも新生骨は欠損部辺縁に限られていた。4週・8週のbFGF30 μ g投与群では骨欠損中央にも島状の新生骨を認めたと50 μ g投与群ではわずかであった。骨塩量測定の結果は2週では3群間に有意差は無かった。4週でコントロールに比べてbFGF投与群は低値であった。しかし、8週では3群間に有意差は無くなった。骨新生面積の測定結果は2週では3群間に有意差は無かった。骨塩量と同様に4週でコントロールに比べてbFGF投与群は低値であった。8週でコントロールは有意に減少しbFGF30 μ g投与群との間に有意差は無くなった。一方bFGF30 μ g投与群は8週で有意に増加し50 μ g投与群に対し有意に高かった。

【考察】今回の結果からアテロコラーゲン重合体間の強固な架橋は骨芽細胞の遊走を妨げ、骨の誘導には弱い架橋のものが有効であると考えられる。新生骨辺縁には2週より破骨細胞が認められ、欠損部中央の島状骨には吸収の機序が作用し易いと思われる。bFGFによる長管骨骨折部の軟骨性仮骨形成促進の報告があるが、膜様骨骨欠損部の軟骨を経ない骨化についてはbFGFは無効のようであった。bFGFは骨基質の成分である型コラーゲンの骨芽細胞による産生を抑制するとされ骨新生には抑制的に作用している可能性がある。その一方でbFGFは骨芽細胞によるコラーゲナーゼ分解蛋白の産生を促進するといわれ、結果的に骨吸収を抑制するとも考えられる。bFGF30 μ g投与群で新生骨が骨吸収を受けずに8週まで維持されたことは、ある用量のbFGF投与が骨吸収抑制に効果的である可能性を示唆している。