

論 文 要 旨

Bone healing capabilities of recombinant human bone morphogenetic protein-9 (rhBMP-9) with a chitosan or collagen carrier in rat calvarial defects.

ラット頭蓋骨欠損における recombinant human bone morphogenetic protein-9 (rhBMP-9)とキトサンもしくはコラーゲン担体を用いた骨治癒能

篠原 敬哉

【序論及び目的】

歯周炎、インプラント周囲炎、外傷、腫瘍、先天異常などが原因で失われた顎骨の骨欠損を再生させるため、多くの研究が行われており、bone morphogenetic proteins (BMPs)を含む様々な成長因子が骨修復、骨再生に関与していることが明らかになっている。特に、骨誘導能を持つ BMP-2 は広く研究されており、吸収性コラーゲンスポンジを担体とした recombinant human (rh) BMP-2 は下顎骨欠損や口蓋裂骨欠損において自家骨に匹敵する新生骨形成を促すことが報告されている。しかしながら、ヒトにおいて骨誘導効果を得るためには、非常に高濃度の rhBMP-2 が必要であり、更に、浮腫、血清腫及び歯肉腫脹などの有害事象も報告されている。従って、より予知性が高く、効果的で、合併症のない骨再生療法の開発が望まれている。

BMP-9 は胎生期マウスの肝細胞から発見され、間葉系幹細胞を骨形成細胞へ分化促進させる作用を有し、BMP-2 とともに骨形成性の BMP に分類されている。BMP-9 は BMP-2 と異なる性質を有し、筋肉に損傷がある場合にのみ同部位に異所性骨形性能を示すことや(Leblanc E *et al.* 2011)、BMP-9 の作用が BMP アンタゴニストである noggin の影響を受けないことが報告されている(Wang Y *et al.* 2013)。しかし、現在までの報告は、ほとんどがアデノウイルスを用いて BMP-9 を強発現させた細胞株を使用した細胞移植による異所性骨形成能の報告が多い。

骨形成促進のためには、欠損部位での成長因子の生着、徐放を支持する適切な担体の選択が必要不可欠である。吸収性コラーゲンスポンジは骨再建術において BMPs の適切な担体として広く使用されている。一方で、マウスの大腿四頭筋においてキトサンベースの BMP-9 ゲルの注入は異所性骨形成を引き起こすが、コラーゲンベースの BMP-9 ゲルの注入は異所性骨形成を引き起こさないという報告がなされた(Bergeron E *et al.* 2012)。しかしながら、rhBMP-9 と各種担体との組み合わせが、実際の骨欠損において、どのような骨形成能を持つのかは不明な点が多い。そこで本研究では、ラット頭蓋骨欠損における rhBMP-9 の骨形成能を 2 種類の担体(吸収性コラーゲンスポンジ,キトサンスポンジ)を用いて評価した。

【材料及び方法】

Wistar 系ラット (20 匹) の両側頭蓋骨頂部に骨欠損 (φ5mm) を外科的に作製し、吸収性コラーゲンスポンジ (ACS), rhBMP-9/ACS, キトサンスポンジ (ChiS), rhBMP-9/ChiS 各々の埋植お

よび Control (欠損のみ)の 5 群 (各 N=8) の処置を行った。8 週後、動物を安楽死させ実験部位を採取し、通法に則り脱灰薄切標本を作製しヘマトキシリン・エオジン染色後、組織学的評価を行った。

【結 果】

rhBMP-9/ACS 群(86.49 ± 23.92%)の欠損閉鎖率は ACS 群(54.91 ± 14.03%)より有意に高く、全群で最も高かった。欠損中心部の組織厚み(CBH)、欠損周辺部の組織厚みの両パラメーターにおいては、ACS 移植群(ACS 群, rhBMP-9/ACS 群)が Control 群と比較し有意に高かった。更に、CBH は、ChiS 移植群(ChiS 群, rhBMP-9/ChiS 群)よりも ACS 移植群の方が有意に高かった。ChiS 移植群、rhBMP-9/ACS 群における新生骨面積率は ACS 群と比較し有意に高かった。ChiS 群と rhBMP-9/ChiS 群では骨欠損部の両端より新生骨の形成が認められたが、全ての組織形態計測項目において群間で有意差は認められなかった。

【結論及び考察】

rhBMP-9/ChiS 群と ChiS 群間では、組織学的パラメーター全てにおいて、有意差は認められなかった。また、rhBMP-9 の有無に関わらず、ChiS は、8 週後に、著しく吸収しており、骨欠損領域の両端から新生骨形成が起こっているのが見受けられた。この結果より、ChiS は、rhBMP-9 の担体としてではなく、ChiS 自体がスキャフォールドとして骨形成に作用し、早期の吸収により、rhBMP-9 の担体として機能しなかったと考えられる。

一方で、rhBMP-9/ACS 群は、ACS 群に対して、骨欠損閉鎖幅(DC)、新生骨領域(NBA)において、有意な促進が認められ、また、rhBMP-9/ACS 群は、Control 群, ChiS 群, rhBMP-9/ChiS 群との間に、有意差はなかったものの、DC において、全群間で最も高値を示した。この結果より、ACS が rhBMP-9 の担体として、重要な役割を果たしていることが示され、骨欠損領域中で、rhBMP-9 によって、骨髄や骨膜に存在する骨前駆細胞の骨分化誘導が引き起こされ、骨形成が促進されていると考えられる。

また、CBH において、rhBMP-9 の併用の有無に関わらず、ACS 群, rhBMP-9/ACS 群の両群が、ChiS 群, rhBMP-9/ChiS 群の両群より、有意な厚みを示した。これは、本研究で使用した ACS, ChiS の物理的、構造的な材料の特性、吸収速度の違いによるものかもしれない。

これらの結果より、ラット頭蓋骨欠損モデルにおいて、rhBMP-9 と、担体として ACS を併用することは、骨形成に有効であることが示された。しかしながら、本研究では、rhBMP-9 の濃度に関しては評価しておらず、最適濃度は明らかではない。したがって、rhBMP-9 の濃度を振り分けて、骨形成能を評価し、加えては、*in vivo* にて、BMP-9 と他の BMPs の骨形成能を比較・評価する更なる研究が必要である。これらの研究結果によって、顎顔面領域での骨欠損に苦しむ患者にとって、より低濃度で合併症のない BMP に基づく骨再生療法が将来、期待できるかもしれない。