

氏 名	那 須 文 章
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 3248 号
学位授与の日付	平 成 20 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 外 科 系 専 攻
学位論文題目	EP4 agonist accelerates osteoinduction and degradation of β -tricalcium phosphate by stimulating osteoclastogenesis (EP4 アゴニストは破骨細胞分化刺激により β 三リン酸カルシウムによる骨誘導と吸収を促進する)
論文調査委員	(主 査) 教 授 成 宮 周 教 授 戸 口 田 淳 也 教 授 開 祐 司

論 文 内 容 の 要 旨

昨今まで、外傷や腫瘍切除などの後に生じる骨欠損に対する治療法として骨移植や人工骨による補填などが主に行われてきた。自家骨移植には量的限界があるため、同種骨移植や人工骨としてハイドロキシアパタイト、三リン酸カルシウム、A-W ガラスセラミックなどが整形外科領域だけでなく耳鼻科や口腔外科領域でも広く用いられている。なかでも多孔構造をもつ β 三リン酸カルシウム (β TCP) は生体内で吸収されて骨に置換されるという特徴をもつ。さらに最近では β TCP を犬の背筋内に埋入し約 8 週後以降に骨誘導を示すことが明らかにされた。生体活性材料による骨誘導は自家骨移植の量的限界を補う手法として注目されているがそのメカニズムの詳細は明らかにされておらず、酒石酸耐性フォスファターゼ (TRAP) 陽性の細胞が骨誘導、 β TCP の吸収それぞれにおいて重要な役割を果たしているといわれている。一方、プロスタグランジン E2 (PGE2) は *in vivo* では骨芽細胞から破骨細胞分化因子 (RANKL) を介して破骨細胞の分化を促進し、*in vitro* では骨芽細胞の増殖を抑制するとの報告があり、PGE2 の破骨細胞に対する作用には追究の余地がある。PGE2 の受容体に関しては EP1、2、3、4 が同定されており、特に EP4 が骨代謝に関与していることが明らかにされている。本研究では EP4 作動薬の投与による β TCP の吸収と骨誘導に対する効果について検討した。

ビーグル犬 9 頭の背筋内に直径 4mm、高さ 10mm の多孔体の β TCP を手術的に埋入した。3 頭ずつの 3 群に分け、EP4 作動薬を投与した群 (P (++)）、非投与群 (P (---))、6 週後以降投与群 (P (-+)) とした。EP4 作動薬は PLGA マイクロスフェアに包埋した薬剤 (徐放製剤; ONO-AE2-724PLGA) を 10 μ g/kg で筋肉注射により投与した。 β TCP はそれぞれ術後 3、6、12 週後に取り出し、パラフィン切片を作成し組織学的に評価した。

骨形成に関しては、P (++) 群では 3 週後には 1/3、6、12 週後は 3/3 に認められたのに対して、P (-+) 群では 0/3、0/3、3/3、P (---) 群では 0/3、1/3、3/3 であった。組織学的に骨と β TCP の面積を定量評価したところ、P (-+) 群、P (---) 群では骨の面積は 12 週で最大であったのに対して、P (++) 群では 6 週までに急増しており、12 週では減少していたものの骨髄様組織も見られ骨誘導が促進されていることが伺えた。12 週では骨の面積は 3 群ともほぼ同等であった。 β TCP の面積はいずれの群でも漸減していたが、P (++) 群では 6 週後以降の減少が著しく、P (-+) 群とともに EP4 作動薬の投与により吸収が促進されていることが確認できた。

TRAP 染色では P (++) 群の 3 週後には他 2 群と比較するとより多数の TRAP 陽性細胞が見られ、以後漸減していた。いずれの群でも TRAP 陽性細胞は経時的に多核化する傾向がみられた。6 週の P (++) 群で観察すると表層に近い孔では TRAP 陽性細胞が残っていたのに対して、深部の孔では TRAP 陽性細胞が減少し骨形成が見られた。6 週までは TRAP 陽性細胞は β TCP に接して見られたが、P (++) 群の 12 週では骨表面にも確認することができた。

以上のことから EP4 作動薬を投与することで β TCP の吸収と骨誘導を促進させることができる可能性がある。また、それに先立って TRAP 陽性細胞の発現が促進されており、これらが β TCP の吸収と骨誘導に関わっている可能性が示唆された。骨誘導を促進させることは、生体活性材料を骨補填材として用いる上で有用考えられ、新たな治療方法として利用でき

る可能性がある。

論文審査の結果の要旨

生体活性材料による骨誘導は生体活性材料の新たな可能性として注目されているが、そのメカニズムの詳細は明らかにされていない。一方、プロスタグランジン E2 (PGE2) のレセプターの一つである EP4 が骨代謝に関与していることが明らかにされている。本研究では EP4 作動薬の投与による β -TCP (β -tricalcium phosphate) の吸収と骨誘導に対する効果について検討した。ビーグル犬の背筋内に多孔体の β -TCP を手術的に埋入した。EP4 作動薬を手術日より投与した群 (A 群)、非投与群 (B 群)、手術後 6 週以降投与群 (C 群) に分け、EP4 作動薬は PLGA (Poly lactic-co-glycolic acid) マイクロスフェアに包埋した薬剤 (ONO-AE2-724) を $10 \mu\text{g}/\text{kg}/3$ 週で筋肉注射により投与した。 β -TCP はそれぞれ術後 3、6、12 週後に取り出し組織学的に評価した。骨形成は A 群で 6 週後に最も増大していた。 β -TCP の吸収も A 群で促進されていた。TRAP (Tartrate-resistant acid phosphatase) 染色では 3 週後の A 群で特に多数の TRAP 陽性細胞が見られ、6 週後には深部の孔では TRAP 陽性細胞が減少し骨形成が見られた。12 週後の C 群では吸収が促進されていたが骨誘導は差がなかった。以上のことから EP4 作動薬を投与することで β -TCP の吸収と骨誘導を促進させることが見出された。また、それに先立って TRAP 陽性細胞の発現が促進されておりこれが β -TCP の吸収に関わっている可能性が示唆された。

以上の研究は、生体活性材料による骨誘導のメカニズムの解明に貢献し、その臨床応用への推進に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値のあるものと認める。なお、本学位申請者は、平成 20 年 3 月 12 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。