

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 4 月 1 日現在

機関番号：16101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2009～2011

課題番号：21659354

研究課題名（和文） 成長軟骨板の分子制御メカニズムの解明

研究課題名（英文） Molecular control of chondrocytes in the growth plate

研究代表者 江西 哲也 (ENISHI TETSUYA)
徳島大学・病院・特任助教

研究者番号：20467806

研究成果の概要（和文）：

家兔の成長軟骨板を半切し、取り出した成長軟骨を 90 度回転し静止軟骨細胞層が元の成長軟骨版に接するように固定した。術後、原位置の成長軟骨版の軟骨細胞が 90 度その極性を変えていた。この現象は静止軟骨細胞層が接した時のみ生じ、他の細胞層が接した時はこの現象は見られなかった。この実験により静止軟骨層の軟骨細胞が極性を決定している事を証明した。また摘出した組織より DNA マイクロアレイを行い、いくつかの極性に関与する候補因子を挙げることができた。

研究成果の概要（英文）：

The rabbit growth plate was first cut in half, parallel to the longitudinal axis of the bone. The excised resting zone cartilage was rotated 90 degrees to bring the resting zone alongside the original growth plate. Seven days after surgery, chondrocytes at the original growth plate near the ectopic resting zone had undergone an approximately 90-degree shift in orientation. In some of these growth plates, we obtained several candidate factors using DNA microarray. We investigated if these candidate factors are involved in the polarity of the growth plate. These results are valid to control the limb lengthening.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,000,000	0	1,000,000
2010 年度	1,100,000	0	1,100,000
2011 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	270,000	3,270,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：整形外科学

キーワード：骨・軟骨代謝学

1. 研究開始当初の背景

我々の研究室では骨長を薬剤投与により制御する方法の開発を行っている。長管骨を直線的に伸長/短縮するには軟骨細胞の極性を

制御する必要がある。

骨の長径成長は成長軟骨板で起きている。成長軟骨板の軟骨細胞はその形態により骨

端側から静止軟骨層、増殖軟骨層、肥大細胞層の三層に区分され、常に骨端側から骨幹部に向かって分裂し、長軸方向に規則正しく配列して円柱状構造をなす。このように成長軟骨板において軟骨細胞が、常に一定の方向に向かって、すなわち極性をもって分裂し、骨成長を制御する機構が存在する。

過去の研究にて成長軟骨板の極性が軟骨細胞からの固有の因子によって決定されている可能性が示唆されているが、いまだにその因子は同定されていない。

2. 研究の目的

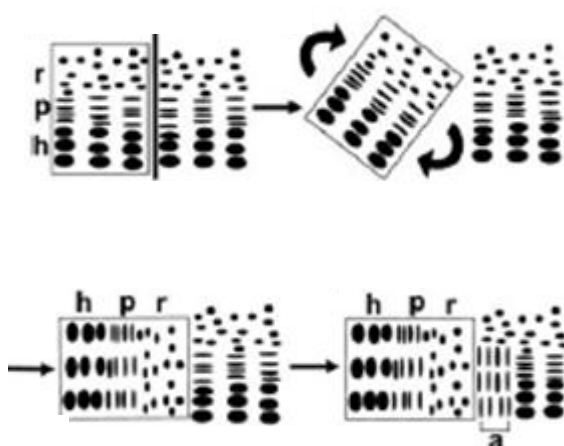
本研究の目的は、成長軟骨板の分子制御メカニズムを解明し、より低侵襲な骨延長法を開発することである。

3. 研究の方法

具体的には、まず直線的に骨延長するために成長軟骨板における極性を決定する因子を同定し、骨成長の制御メカニズムを解明する。

日本白色家兎を用いた動物実験を行った。動物実験は本学動物委員会の規定を遵守し、動物実験施設で行った。

まず極性を決定する因子が成長軟骨細胞層のどの層に存在するかを検討した。方法は、成長軟骨板を半分切り取り、骨の長軸に対し90度回転し元位置に設置した。元位置に設置する時成長軟骨板に静止軟骨細胞層、増殖軟骨細胞層、肥大軟骨細胞層のそれぞれの層が接するように設置した。シエマを図1で示す。



A. 日本白色家兎の尺骨の遠位の成長軟骨板を半切。B. 90度回転。C. 90度回転し本来の成長軟骨板と接するように設置。D. aの部位の成長軟骨板の極性が変化した。

4. 研究成果

成長軟骨板の静止軟骨層の軟骨細胞が極性を決定している事を証明した。

上述の手技にて得られたサンプルより組織切片を作成しHE染色の後、詳細な観察を行った。術後7日の組織切片を観察してみると90度回転した成長軟骨が接した部分の元位置の成長軟骨細胞の極性が90度回転した成長軟骨板の極性に準じて極性を変化させていた。静止軟骨細胞を原位置に接して設置した時には元位置の成長軟骨板は90度極性を変えた。他の細胞層、すなわち増殖軟骨細胞層、肥大軟骨細胞層を元位置に接して設置した時には極性が変わることはなかった。(図2参照)

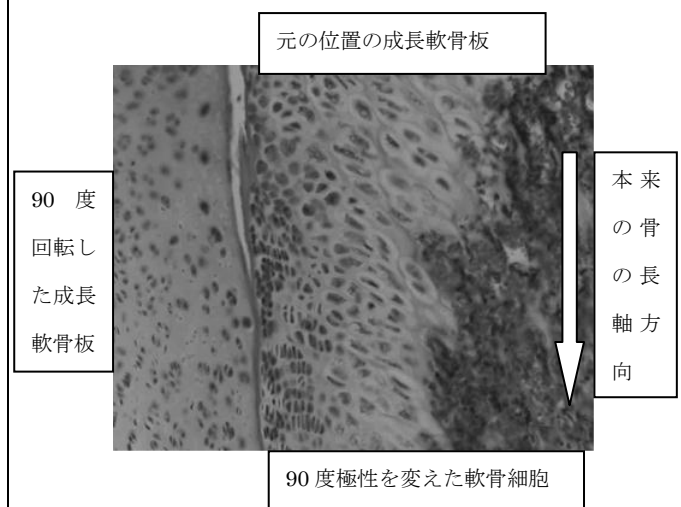


図2の極性を変えた軟骨細胞は、極性を変えただけではなく細胞の形態の変化も見られた。回転し設置された軟骨細胞のレベルでは本来であれば肥大軟骨細胞が既に骨に置換されている高さの部位である。肥大軟骨細胞が細胞死せずに極性を変え形態を変化させていた。この現象もまた静止軟骨細胞層を接して設置したときのみ観察された。

成長軟骨版の軟骨からDNAマイクロアレイにより軟骨細胞の極性を決定する候補因子をいくつか挙げる事ができた。

これらの候補因子について軟骨細胞の極性に対する効果についてin vivoやin vitroの実験系で検討中である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計14件)

①

Mineral to matrix ratio determines biomaterial and biomechanical properties of rat femur application of Fourier transform infrared spectroscopy.

Takata S, Yonezu H, Shibata A, Enishi T, Sato N, Takahashi M, Nakao S, Komatsu K, Yasui N.

J Med Invest. 2011 Aug;58(3-4):197-202.

査読有

②

Locally administered zoledronic Acid therapy for giant cell tumor of bone.

Nishisho T, Hanaoka N, Endo K, Takahashi M, Yasui N.

Orthopedics. 2011 Jul 7;34(7):e312-5.

査読有

③

Extraskelatal Ewing's sarcoma in a 67-year-old man.

Hanaoka N, Goto T, Kasai T, Matsuura T, Nishisho T, Enishi T, Yasui N.

J Orthop Sci. 2011 Mar;16(2):250-2.

査読有

④

Differential expression of Tenomodulin and Chondromodulin-1 at the insertion site of the tendon reflects a phenotypic transition of the resident cells.

Yukata K, Matsui Y, Shukunami C, Takimoto A, Hirohashi N, Ohtani O, Kimura T, Hiraki Y, Yasui N.

Tissue Cell. 2010 Apr;42(2):116-20.

査読有

⑤

Diffuse arachnoid ossification and multiple arachnoid cysts presenting with progressive thoracic myelopathy.

Sakai T, Sairyo K, Kashima M, Kosaka H, Katoh S, Yasui N.

Skeletal Radiol. 2010 Mar;39(3):299-304.

査読有

⑥

Causes of radiculopathy in young athletes with spondylolysis.

Sairyo K, Sakai T, Amari R, Yasui N.

Am J Sports Med. 2010 Feb;38(2):357-62.

査読有

⑦

The value of using radiographic criteria for the treatment of persistent symptomatic olecranon physis in adolescent throwing athletes.

Matsuura T, Kashiwaguchi S, Iwase T, Enishi T, Yasui N.

Am J Sports Med. 2010 Jan;38(1):141-5.

査読有

⑧

Cervical and upper thoracic screwing for spinal fusion: strategy for its safe insertion to avoid major complications.

Sairyo K, Sakai T, Higashino K, Tamura T, Katoh S, Yasui N.

Arch Orthop Trauma Surg. 2009 Nov;129(11):1447-52.

査読有

⑨

Arthroplasty using a custom-made cemented total hip prosthesis for an extensive giant cell tumor of the proximal femur: report of a patient followed up for over 30 years.

Nakano S, Enishi T, Hasan MY, Hanaoka N, Kawasaki Y, Egawa H, Kinoshita I, Yasui N.

Arch Orthop Trauma Surg. 2009 Sep;129(9):1171-5.

査読有

⑩

The effect of rheumatoid arthritis on the anatomy of the female cervical spine: a radiological study.

Higashino K, Sairyo K, Katoh S, Nakano S, Enishi T, Yasui N.

J Bone Joint Surg Br. 2009 Aug;91(8):1058-63.

査読有

⑪

Anterior transvertebral herniotomy for cervical disc herniation: a long-term follow-up study.

Sakai T, Katoh S, Sairyo K, Tamura T, Hirohashi N, Higashino K, Yasui N.

J Spinal Disord Tech. 2009 Aug;22(6):408-12.

査読有

⑫

Expression of HMGA2-LPP and

LPP-HMGA2 fusion genes in lipoma: identification of a novel type of LPP-HMGA2 transcript in four cases. Kubo T, Matsui Y, Naka N, Araki N, Goto T, Yukata K, Endo K, Yasui N, Myoui A, Kawabata H, Yoshikawa H, Ueda T. Anticancer Res. 2009 Jun;29(6):2357-60. 査読有

⑬

Optimal increase in bone mass by continuous local infusion of alendronate during distraction osteogenesis in rabbits. Abbaspour A, Takahashi M, Sairyo K, Takata S, Yukata K, Inui A, Yasui N. Bone. 2009 May;44(5):917-23. 査読有

⑭

Minimally invasive technique for direct repair of pars interarticularis defects in adults using a percutaneous pedicle screw and hook-rod system. Sairyo K, Sakai T, Yasui N. J Neurosurg Spine. 2009 May;10(5):492-5 査読有

〔学会発表〕(計3件)

①

江西 哲也

The fate of chondrocyte-like cells during distraction osteogenesis in the rabbits
2011 Sep 19
ASBMR 2011 annual meeting
San Diego, CA, USA

②

江西 哲也

Significant fracture-dislocation of the thoracic or lumbar spine without neurologic deficit: A report of two cases. The 2011 International Conference on Spinal Cord Medicine and Rehabilitation
2011 June 4-8
Washington, D.C., USA

③

江西 哲也

The fate of chondrocyte-like cells during distraction osteogenesis in the rabbits
2011 Jan 13-16
ORS 2011 annual meeting
Long beach, CA, USA

6. 研究組織

(1) 研究代表者

江西 哲也 (ENISHI TETSUYA)
徳島大学・病院・特任助教
研究者番号：20467806

(2) 研究分担者

安井 夏生 (YASUI NATSUO)

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・教授
研究者番号：00157984

高田 信二郎 (TAKATA SHINJIRO)

徳島大学・病院・准教授
研究者番号：20284292

油形公則 (YUKATA KIMIMORI)

徳島大学・病院・特任助教
研究者番号：40564430
(H23 研究分担者)

菅沼 勝義 (SUGANUMA KATSUYOSHI)

徳島大学・病院・医員
研究者番号：20444721
(H21 研究分担者)