

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 6 月 18 日現在

機関番号：17501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24791555

研究課題名(和文)ラット脊椎固定モデルにおける新しいビタミンE誘導体の骨癒合能の検討

研究課題名(英文)Analysis of the enhanced bone fusion effect of a new synthetic vitamin E in a rat spinal fusion model.

研究代表者

宮崎 正志 (Miyazaki, Masashi)

大分大学・医学部・講師

研究者番号：30527742

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：BMPとBisphosphonate投与時の骨融合(脊椎固定)への影響や、当大学で開発させたビタミンE誘導体の担体としての有効性と安全性を検討するためにラット脊椎固定モデル、ラット大腿骨骨折モデルを確立した。その結果、BMPとBisphosphonate投与時の方が骨の癒合、形成が良かった。これより、この組み合わせが、骨癒合を促進させ脊椎固定術に有用な可能性が示唆され、将来的な臨床応用が期待される。

研究成果の概要(英文)：We aimed to investigate the enhanced effect of bone morphogenetic protein (BMP) and bisphosphonate, the enhanced effect of a new synthetic vitamin E and recombinant human BMP-2 in a rat spinal fusion model. The synergic effect of a carbon nanofiber and recombinant human BMP-2 The combination of rhBMP-2 and zoledronic acid administered systemically as a single dose at the optimal time was efficacious in our rat spinal fusion model. Our results suggest that this combination facilitates spinal fusion and has potential clinical application.

研究分野：医歯薬学

キーワード：BMP ラット 脊椎固定 bisphosphonate

### 1. 研究開始当初の背景

脊椎脊髄外科領域において脊椎固定術は最も頻りに施行されている手技である。しかしながら、様々な治療法の進歩にかかわらず、いまだ、その骨癒合率は満足できるものではなく、偽関節率は5-43%と報告されている。Bone morphogenetic protein (BMP) は強力な骨形成能と軟骨形成能、血管新生能を有する蛋白であり、米国においては脊椎固定術に対して使用が認められている。しかしながら、BMP はその効果が期待される分、非常に高価であり、また、臨床報告によると、十分な骨癒合を得るためには多量の BMP が必要とされるため、医療費用が問題となる。様々な BMP を用いたより効果的で安価な脊椎固定術の方法が模索されている。

### 2. 研究の目的

ラットモデルを用いてBMPとBisphosphonate投与時の骨融合(脊椎固定)への影響や、当大学で開発させたカーボンナノファイバーやビタミンE誘導体の担体としての有効性と安全性を検討することを目的とした。

### 3. 研究の方法

ラット脊椎固定モデルを用いて各々BMP-2とZoledronic acid(ZA)の相互効果を実験した。

全身麻酔下、ラット脊椎固定モデルを作成する。ラットの背部を約4cm切開し傍脊柱筋を筋膜から切開しL4, L5の脊椎横突起を展開する。横突起の皮質骨をcutting barにてdecorticationした後、横突起間にBMPを担体とともに置く。傍脊柱筋および皮膚を縫合する。実験は6群にわけ、Group I、担体のみ; Group II は担体 + ZA (術後2週でBisphosphonateとしてZA(0.1mg/kg)を皮下投与する)、Group III, BMP-2(1 $\mu$ g)を移植; Group IV, BMP-2(1 $\mu$ g)+ZA; Group V, BMP-2(3 $\mu$ g)を移植; Group VI, BMP-2(3

$\mu$ g)+ZAの実験を行う。各群ともに10匹以上、計67匹の実験を行った。手術8週間後に脊椎を摘出し、徒手骨癒合試験後に、X線撮影、H.E染色による病理組織標本作製する。レントゲン像から骨癒合の判定の有無と、病理組織標本から組織学的骨融合評価、架橋形成、骨梁の大きさ、細胞浸潤の程度など検討した。さらにmicroCTを用いて新生骨の性状を詳細に検討した。

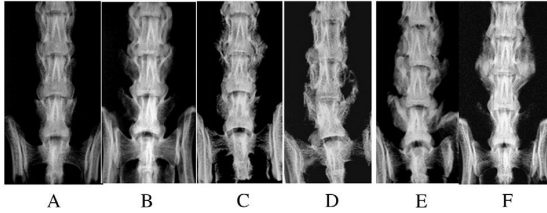
### 4. 研究成果

ラット脊椎固定モデルにおいて徒手骨癒合試験の結果はGroup I, 担体のみは0%; Group II, 担体 + ZAは0%; Group III BMP-2(1 $\mu$ g)は12.5%; Group IV, 1 BMP-2(1 $\mu$ g)+ZAは20.8%とGroup V, BMP-2(3 $\mu$ g)を移植は35.0%、Group VI, BMP-2(3 $\mu$ g)+ZAは60%とGroup VIが著明に他のGroupと比較して高かった。軟線レントゲン撮影による評価は3検者による盲検法にて施行し4面にて骨癒合を評価した。その結果もGroup I, 0.14; Group II, 0.21; Group III, 1.04; Group IV, 1.42; Group V, 2.45; Group VI, 3.95とGroup VIが著明に他のGroupと比較して高かった。

マイクロCTによる解析ではBVがGroup VIが著明に他のGroupと比較して高かった。

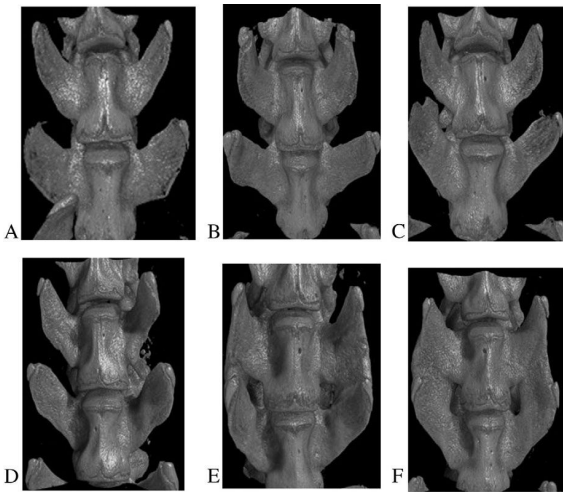
組織学的評価においてはGroup Iでは横突起間部に線維組織の形成が目立ち、骨形成は認めなかった。Group IIでは未熟な骨組織および厚い骨梁形成を認める。Group IIIでは横突起間部には軟骨仮骨が大部分を占めている。Group IVでは成熟した骨組織および骨梁形成を一部認めるが、横突起間部にギャップを認める。Group Vでは横突起間部に骨梁形成および成熟した骨組織を認めるが、一部軟骨組織が存在している。Group VIでは骨梁形成が旺盛であり十分に発達した骨髄により囲まれている。

術後 8 週の X 線画像



(A) Group I , (B) Group II , (C) Group III ,  
(D) Group IV , (E) Group V , (F) Group VI

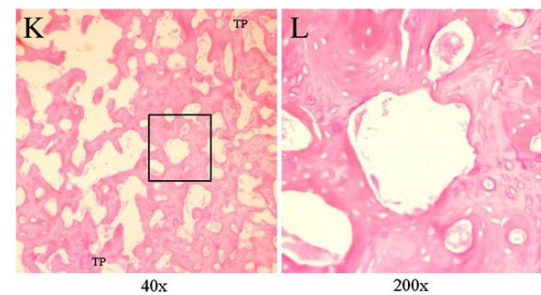
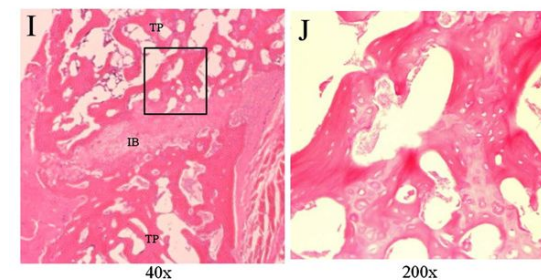
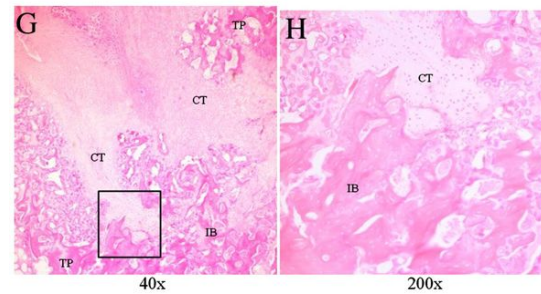
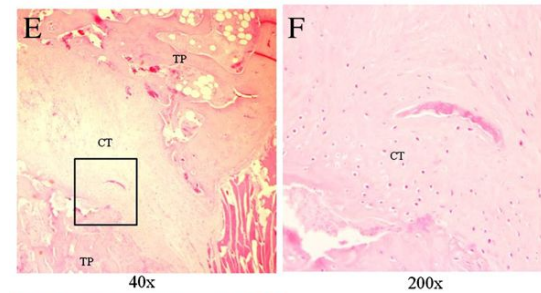
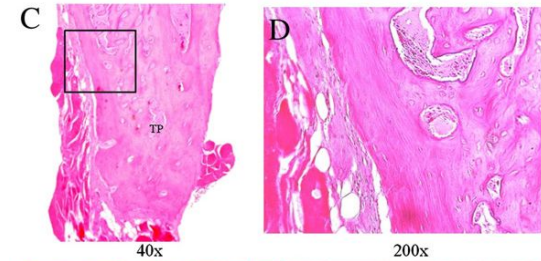
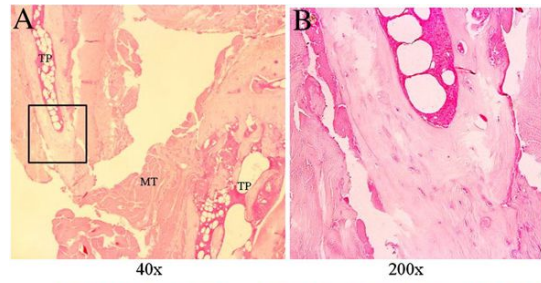
術後 8 週のマイクロ CT 3D 画像



(A) Group I , (B) Group II , (C) Group III ,  
(D) Group IV , (E) Group V , (F) Group VI

病理組織像

(A) Group I (magnification×40), (B) Group I  
(magnification×200)  
(C) Group II (magnification × 40), (D) Group II  
(magnification × 200)  
(E) Group III (magnification × 40), (F) Group  
III (magnification × 200)  
(G) Group IV (magnification × 40), (H) Group  
IV (magnification × 200)  
(I) Group V (magnification × 40), (J) Group V  
(magnification × 200)  
(K) Group VI (magnification × 40), (L)  
Group VI (magnification × 200)



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 1 件 )

Kodera R, Miyazaki M\*, Yoshiiwa T,  
Kawano M, Kaku N, Tsumura H.  
Manipulation of anabolic and catabolic  
responses with bone morphogenetic  
protein and zoledronic acid in a rat spinal  
fusion model. Bone. 2014 Jan;58:26-32.  
doi: 10.1016/j.bone.2013.09.021. Epub  
2013 Oct 5 査読有り

[ 学会発表 ] ( 計 2 件 )

小寺隆三、宮崎正志\*、吉岩豊三、原克  
利、片岡晶志、津村弘 . ラット脊椎固  
定モデルにおける BMP-2 と zoledronic  
acid の相互効果の検討 . 第 27 回 日本  
整形外科学会基礎学術集会 . 名古屋国  
際会議場 ( 愛知県名古屋市 )

Miyazaki M, Yoshiiwa T, Kodera R,  
Tsumura H. Manipulation of anabolic and  
catabolic responses with bone  
morphogenetic protein and zoledronic acid  
in a rat spinal fusion model. Eurospine  
2013, 2013. Oct 2-4. Liverpool, United  
Kingdom

[ 図書 ] ( 計 0 件 )

[ 産業財産権 ]

出願状況 ( 計 0 件 )

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年月日 :

国内外の別 :

取得状況 ( 計 0 件 )

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年月日 :

取得年月日 :

国内外の別 :

[ その他 ]

ホームページ等

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

宮崎 正志 ( Miyazaki , Masashi )

大分大学・医学部・講師

研究者番号 : 3 0 5 2 7 7 4 2

(2) 研究分担者

( )

研究者番号 :

(3) 連携研究者

( )

研究者番号 :