

平成 21 年 4 月 4 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008

課題番号：19592284

研究課題名（和文） 顎顔面骨骨治癒過程における COX-2 シグナルの役割の解明

研究課題名（英文） Cyclooxygenase-2 Activity is Important in Fracture Healing of Membrane Bone

研究代表者

近津 大地（CHIKAZU DAICHI）

東京大学・医学部附属病院・特任講師

研究者番号：30343122

研究成果の概要：

プロスタグランジンの合成酵素であるシクロオキシゲナーゼ-2 (COX-2) が阻害されることによって、骨折の治癒が著しく抑制されることが知られている。しかし、これは足の骨治癒過程を検討しており、それとは治癒過程の機序が異なる顎や顔面の骨治癒は不明である。そこで、我々は COX-2 遺伝子を欠損したマウスを用いて、頭蓋骨での骨治癒過程を検討したところ、顎や顔面の骨治癒過程においても COX-2 が重要であることが分かった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
19 年度	2,300,000	690,000	2,990,000
20 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：口腔外科学一般

## 1. 研究開始当初の背景

骨は、膜性骨化や軟骨内骨化による骨新生により成長し、成長を終えた後も骨吸収と骨形成を繰り返して、再構築を営む事により形

態や機能を維持している。このように保たれている骨のが活性化して損傷の修復が起こる。また、上顎・下顎骨切り後の骨治癒においても質および量は、骨吸収と骨形成との平

平衡関係の破綻により障害される。平衡関係に破綻をきたす病態の一つに骨折があり、損傷により骨の再生メカニズム骨の再生メカニズムが働いて咬合の安定をもたらす。この過程は軟骨細胞、骨芽細胞、破骨細胞からなる主に3つの細胞により制御されている。近年、シクロオキシゲナーゼ 2 (COX-2) によるプロスタグランジン (PG) が痛みや炎症のみならず、破骨細胞による骨吸収に関与していることが指摘されて、COX-2 阻害剤による骨吸収性疾患に対する治療が注目されている (Kawaguchi H, Chikazu D, et al.: *J Bone Miner Res* 15: 466, 2000)。一方、COX-2 は骨吸収のみならず骨形成にも関与しており、われわれは、骨芽細胞および骨髄間葉系幹細胞培養系において、COX-2 の誘導を介して PG が産生されることにより、これらの細胞の分化、骨形成を促進していることを明らかにしている (Chikazu D, et al.: *J Bone Miner Res* 20: 1888, 2005; Chikazu D, et al.: *Asian J Oral Maxillofac Surg* 18: 28, 2006)。また、COX-2 ノックアウトマウスもしくは COX-2 阻害剤を用いた脛骨骨折モデルにおいて、COX-2 が阻害されることにより骨折の治癒が著しく抑制されることが報告されている (Zhang X, et al.: *J Clin Invest* 109: 1405, 2002; Simon AM, et al.: *J Bone Miner Res* 17: 963, 2002)。このように、COX-2 は骨折や骨切り後の骨治癒における key factor といえる。

## 2. 研究の目的

既存の脛骨骨折モデルでは軟骨内骨化で生じた骨における骨治癒過程を検討しており、顎顔面骨領域である膜性骨での骨治癒過程を検討した報告はない。本研究の目的は、膜性骨である顎顔面骨骨治癒過程における COX-2 シグナルの役割を解明することである。

## 3. 研究の方法

(a) COX-2 ノックアウトマウスを用いた顎顔面骨 (膜性骨) 骨折モデルの作製: COX-2 ノックアウトマウスおよび野生型マウス (8 週齢雌、18-22g) は、チャールズ・リバー・ジャパンより購入した。マウスの頭蓋冠を露出させて、直径 4 mm のデルマパンチで頭蓋冠の片側を硬膜直上まで骨切りを行い、骨片が十分可動することを確認し、頭皮を再縫合した。実験動物は各 12 匹とした。



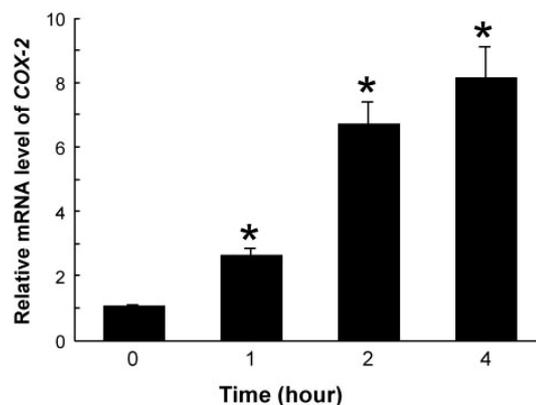
(b) 骨治癒過程における分子・組織学的解析;

(1) 飼料作製法および観察法: 手術直後、手術後 2、4、8、12 週目に体重を測定してから安楽死させた。頭蓋冠を摘出し、4%ホルマリンで固定。そして、軟 X 線撮影、CT 撮影を行い、骨折治癒経過を画像にて評価検討した。次に、骨形成様式を検討するために、トルイジンブルー染色、ヘマトキシリン-エオジン染色を行った。

(2) 分子生物学的検討: 頭蓋冠骨折周囲における PG 合成酵素である COX-2 mRNA レベルでの発現について real-time PCR で検討を行った。

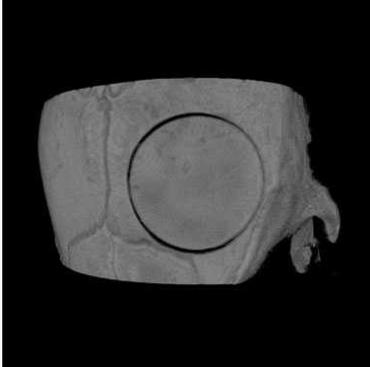
## 4. 研究成果

野生型マウスの頭蓋冠骨折周囲における COX-2 mRNA レベルでの発現は経時的に増加した。

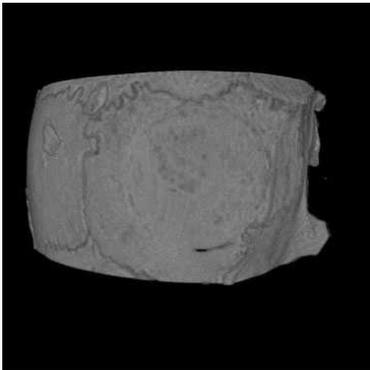


また、野生型マウスでは術後 12 週で骨折が

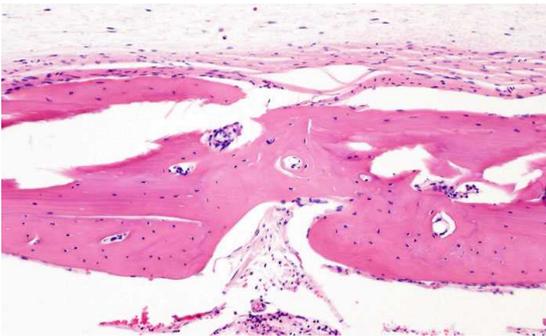
順調に治癒していったが、COX-2 ノックアウトマウスにおいてはほとんど治癒が認められなかった。このことから、COX-2 は膜性骨における骨折治癒においても重要な役割を演じていることが分かった。



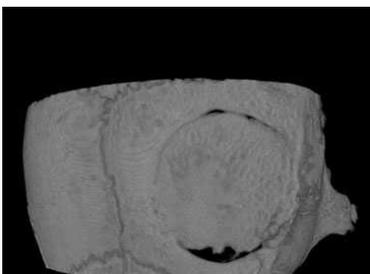
COX-2 (+/+) 0 week



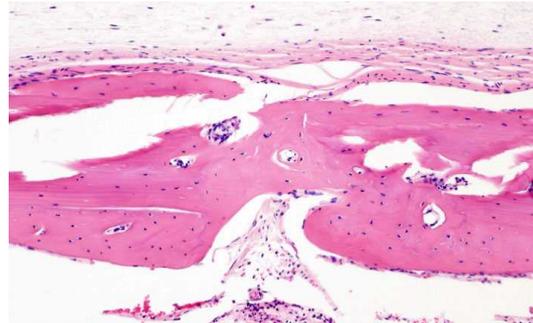
COX-2 (+/+) 12 week



COX-2 (+/+) 8 week



COX-2 (-/-) 12 week



COX-2 (-/-) 8 week

##### 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 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

PTH Induces COX-2 in MC3T3-E1 Osteoblasts via cAMP-PKA and Calcium-Calcieneurin Pathways: Hechang Huang, Daichi Chikazu, Olga S. Voznesensky, Hicham Drissi, and Carol C. Pilbeam; 30th ASBMR Annual Meeting (Quebec, Canada); September 12-16, 2008.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

取得状況（計 0 件）

〔その他〕

(1)研究代表者

近津大地（CHIKAZU DAICHI）

東京大学・医学部附属病院・特任講師

研究者番号：30343122

(2)研究分担者

高戸毅（TAKATO TSUYOSHI）

東京大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：90171454

小笠原徹（OGASAWARA TORU）

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：20359623

(3)連携研究者

なし