



Title	Expression of Bone Matrix Proteins mRNA During Distraction Osteogenesis
Author(s)	佐藤, 宗彦
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41610
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	佐藤宗彦
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第14523号
学位授与年月日	平成11年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科外科系専攻
学位論文名	Expression of Bone Matrix Proteins mRNA During Distraction Osteogenesis (骨延長における骨基質蛋白の遺伝子発現の誘導)
論文審査委員	(主査) 教授 越智 隆弘
	(副査) 教授 北村 幸彦 教授 青笛 克之

論文内容の要旨

【目的】

近年、先天奇形や外傷後の脚短縮症に対する画期的な治療法として仮骨延長術が注目され、臨床的に必要不可欠な手術手技となっている。しかし、骨折治癒過程と比べ、非常に良好かつ持続的な骨形成が得られる骨延長の基礎メカニズムについては未だ不明な点が多い。われわれは、以下の3項目を確立し、分子生物学的手法を用いて骨延長の基礎メカニズムを検討した。1、適切な遺伝子プローブが容易に入手可能、ラットを用いた再現性の高い骨延長モデルを確立した。2、灌流固定後の脱灰硬組織連続切片を作成した。3、DIGを用いた感度の高い局在の明確なシグナルが得られる *in situ hybridization*を行った。

【方法】

11週齢SDラット66匹を対象とし、全身麻酔下において左大腿骨に骨延長術を施行した。術式は、左大腿部に皮切を加え、大腿四頭筋と大腿屈筋の筋間を分け大腿骨を露出した。4本のハーフピンを大腿骨に垂直に刺入し、2本目と3本目の間で骨膜下に骨切りを施行した。その後骨切り部を整復するように、4本のハーフピンをミニホフマン延長器に固定した。延長群は手術後7日目より一日2回、1回0.25mm、0.5mm/日の速度で最大1cm延長した。延長中は軟X線撮影により画像的に評価した。延長中さまざまな時期においてラットを屠殺し、延長部の組織よりRNAを抽出するとともに、延長部の組織切片を作製した。それらを用い northern blotting ならびに *in situ hybridization*を施行した。また非延長群は骨切りのみ行い延長は施行しなかった。遺伝子プローブとして、オステオカルシン(OC)、オステオポンチン(OPN)、オステオネクチン(ON)、マトリクスグラップロテイン(MGP)、アルカリリフォスファターゼ(ALP)、コラーゲタイプI(CI)、タイプII(CII)を用いた。

【成績】

1. 画像所見；延長部には、近位遠位両側の元の骨切り面に接して仮骨形成が認められた。その間にはX線透過像がありその幅は延長中ほぼ同じであった。
2. northern blotting；OC、OPN、ON、MGPいずれの発現も骨切りにより誘導され、さらに延長群では非延長群に比べ延長中を通じて強い発現の誘導が認められた。CIは延長初期(延長開始後10日)から延長後期(延長開始後

21日）にかけてその発現が増強したが、CIIは延長初期にのみ発現を認めた。

3. 組織所見およびin situ hybridization；延長開始直前の組織切片では骨切り部に軟骨性仮骨を認めた。延長初期（延長開始後10日・延長量5mm）の組織切片では、延長部には線維芽細胞様細胞、新生血管の増殖が認められ、両側の骨切り面に向かい軟骨内骨化による骨形成がおこなわれていた。ON、MGPのシグナルを認めたのは、線維芽細胞・肥大層を除いた軟骨細胞・幼若骨芽細胞であり、ほぼ同様の分布を示していた。OPNのシグナルを認めたのは、骨化前線の肥大軟骨細胞・幼若骨芽細胞・破骨細胞であった。OCのシグナルを認めたのは、幼若骨芽細胞のみであった。また延長中央部には牽引ストレスの方向に紡錘型に引き延ばされた延長過程に特異的な、軟骨細胞と線維芽細胞の中間の細胞が認められた。さらにこれらの細胞はON、MGPのみならずOPN、OC、ALPを発現していた。延長後期（延長開始後21日・延長量10mm）には膜性骨化が目立ち軟骨内骨化はほとんどみられなかった。骨形成細胞は分化度の順に延長方向にならんでいた。OPのシグナルは分化した骨形成細胞にのみ認めたが、OC、ON、MGPは未分化な骨形成細胞にもシグナルを認めた。非延長群の組織所見およびin situ hybridization像は骨折治癒過程とほぼ同様であった。

【総括】

1. 牽引メカニカルストレスにより骨基質蛋白の遺伝子発現が、広範な細胞に、強くまた持続的に誘導された。
 2. 牵引ストレスの方向に紡錘型に引き延ばされた、延長過程に特異的な、軟骨細胞と線維芽細胞の中間の形態をした細胞が認められた。
 3. 形態的には骨形成細胞とは見えない細胞が成熟骨芽細胞のマーカー（OC、ALP）を発現していた。
- これらが骨延長における良好かつ持続的な骨形成の一因であると考えられた。

論文審査の結果の要旨

佐藤宗彦君は、ラットを用いた骨延長モデルを確立し、分子生物学的手法を用いて骨延長の基礎メカニズムを検討した。その結果、1. 牵引メカニカルストレスにより骨基質蛋白の遺伝子発現が、広範な細胞に、強くまた持続的に誘導されること、2. 牵引ストレスの方向に紡錘型に引き延ばされた、延長過程に特異的な、軟骨細胞と線維芽細胞の中間の形態をした細胞が認められること、3. 形態的には骨形成細胞とは見えない細胞が成熟骨芽細胞のマーカーを発現していることを示し、これらが骨延長における良好かつ持続的な骨形成の一因であると考えられた。整形外科の臨床においては、先天奇形や外傷後の脚短縮症に対する画期的な治療法として骨延長術が注目され、臨床的に必要不可欠な手術手技となっている。本研究によりその骨形成機構の一端が明らかにされ、これは学位に値するものと認める。