

なる。しかし、骨粗鬆症椎体ではHAスティックの補強のみでは loosening の予防には不十分で、スクリュ一周りに clear zone が出現する症例が存在する。

#### 4. 脊椎後方短縮術 (図4)

高度な椎体圧潰により局所後弯が強くなり脊管内へ突出した椎体後壁により神経要素の圧排が強くと見られる症例が適応となる。Saitaらは脊椎後方部分を切除して脊柱後弯を減少させる本法<sup>20)</sup>による良好な成績を報告している。

##### 【手術方法】

皮切は後方正中で行い、骨折椎の頭尾側2椎弓を展開する。骨折椎では横突起側方まで展開し、椎弓と椎間関節を切除する。椎弓切除を外側に延長して骨皮質をすべて除去し海綿骨を目印にしながら椎弓根を確実に同定したのち切除する。硬膜管の左右外側から椎体後壁を切除し、最終的には硬膜管の前方部分も除去する。頭尾側2椎に設置した椎弓根スクリュに徐々に圧迫力を加え、短縮固定すると、上下の終板が近接する。この操作により骨折椎体を挟んで上下椎は水平に近づき脊柱後弯は減少する。短縮後に硬膜前方に突出した骨片がないかを再度確認する。

##### 【本法の特徴】

前方に硬化した血管成分が存在する場合でも、本法では負荷をかけずに安全に矯正操作が可能である。しかし固定範囲は長くなり隣接部に新規椎体骨折である adding-on 骨折が発生しやすくなる。



#### おわりに

高齢者の増加とともに骨粗鬆症性脊椎椎体骨折は増加の一途にある。それに伴い遅発性脊髄麻痺に対する手術的治療の頻度が増加する可能性が高い。治療対象となる症例は内科的合併症を有することが多く、骨脆弱性をも有するため手術適応の決定とその方法の選択には慎重でなければならない。厳密な評価に基づいた手術成績の蓄積により、本疾患に対する治療体系が確立されることが望まれる。

#### 参考文献

- 1) 曾根照喜, 福永仁夫: 我が国における骨粗鬆症有病率と国際比較. 日本臨床 62 巻, 増刊 2: 197-200, 2004.
- 2) 佐々木邦夫: 骨粗鬆症性脊椎椎体骨折の保存的治療. MB. Ortho 18(7): 35-44, 2005.
- 3) Hasegawa K, et al: Vertebral Pseudarthrosis in the Osteoporosis Spine. Spine 23: 2201-2206, 1998.
- 4) Kim DY, et al: Intravertebral vacuum phenomenon in osteoporotic compression fracture: report of 67 cases with quantitative evaluation of intravertebral instability. J Neurosurg 100(Spine 1): 24-31, 2004.
- 5) 種市 学, 他: 骨粗鬆症性椎体圧潰 (偽関節) 発生のリスクファクター解析. 臨整外 37: 437-442, 2002.
- 6) Sugita M, et al: Classification of vertebral compression fractures in the osteoporotic spine. J Spinal Disord Tech 18: 376-381, 2005.
- 7) Kanchiku T, et al: Dynamic Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Imaging of Osteoporotic Vertebral Fracture. Spine 28: 2522-2526, 2003.
- 8) 辻尾唯雄, 他: 早期 MRI からみた骨粗鬆症性脊椎椎体骨折の予後不良因子. 骨・関節・靭帯 20: 45-53, 2007.
- 9) Kempinsky WH, et al: Osteoporotic Kyphosis with paraplegia. Neurology 8: 181-186, 1958.
- 10) 大橋浩太郎, 他: 脊椎骨粗鬆症患者の椎体骨折後の遅発性脊髄麻痺に対する手術治療経験. 整外と災害 38: 1654-1656, 1990.
- 11) Kaneda K, et al: The treatment of osteoporotic-posttraumatic vertebral collapse using the Kaneda device and a bioactive ceramic vertebral prosthesis. Spine 17: S295-S303, 1992.
- 12) John D, et al: Percutaneous vertebroplasty for pain relief and spinal stabilization. Spine 25: 923-928, 2000.
- 13) Steven R, et al: New Technologies in spine. Kyphoplasty and Vertebroplasty for the treatment of painful osteoporotic compression fracture. Spine 26: 1511-1515, 2001.
- 14) 武政龍一, 山本博司, 谷 俊一, 他: 骨粗鬆症性椎体骨折に対するリン酸カルシウム骨ペースト注入による椎体内修復術. 臨整外 37: 457-465, 2002.
- 15) 星野雅俊, 中村博亮, 高岡邦夫: 骨粗鬆症性椎体骨折に対する内視鏡とバルーンを用いた椎体形成術. 新 OS NOW 27: 84-90, 2005.
- 16) Masatoshi H, et al: Endoscopic vertebroplasty for the treatment of chronic vertebral compression fracture. J Neurosurg Spine 5: 461-467, 2006.
- 17) 種市 洋: 骨粗鬆症性胸腰椎椎体圧潰 (偽関節) に対する手術療法. 整・災外 49: 807-813, 2006.
- 18) Galibert P, et al: Note preliminaire sur le traitement des angimes vertebraux par vertebroplastic acrylique percutanee. Neurochirurgie 33: 166-168, 1987.
- 19) Jensen ME, et al: Percutaneous polymethylmethacrylate vertebroplasty in the treatment of osteoporotic vertebral body compression fracture: technical aspects. Am J Neuroradiol 18: 1897-1904, 1997.
- 20) Saita K, et al: Posterior spinal shortening for paraplegia after vertebral collapse caused by osteoporosis. Spine 25: 2832-2835, 2000.

# 早期MRIからみた骨粗鬆症性脊椎椎体骨折の予後不良因子

*Prognostic evaluation of an osteoporotic vertebral fracture by MRI scanned in early stage*

辻尾 唯雄

*Tadao Tsujio*

中村 博亮

*Hiroaki Nakamura*

星野 雅俊

*Masatoshi Hoshino*

寺井 秀富

*Hidetomi Terai*

松村 昭

*Akira Matsumura*

並川 崇

*Takashi Namikawa*

鈴木 亨暢

*Akinobu Suzuki*

高山 和士

*Kazushi Takayama*

高岡 邦夫

*Kunio Takaoka*

「骨・関節・靱帯」第20巻第1号 別刷

(2007年1月)

アークメディア

**早期MRIからみた骨粗鬆症性脊椎椎体骨折の予後不良因子***Prognostic evaluation of an osteoporotic vertebral fracture by MRI scanned in early stage*辻尾 唯雄\* 中村 博亮\*\* 星野 雅俊\* 寺井 秀富\* 松村 昭\*  
*Tadao Tsujio Hiroaki Nakamura Masatoshi Hoshino Hidetomi Terai Akira Matsumura*並川 崇\* 鈴木 亨暢\* 高山 和士\* 高岡 邦夫\*  
*Takashi Namikawa Akinobu Suzuki Kazushi Takayama Kunio Takaoka***はじめに**

高齢化社会の到来とともに、骨粗鬆症の有病者数は増加し、日本国内で1,000万人を超えるといわれている<sup>1)</sup>。骨粗鬆症に伴う骨折のなかで脊椎椎体骨折は最も頻発する骨折である。超高齢化社会を迎えるにあたって、今後ますますその頻度が増加する可能性がある。

現在、骨粗鬆症性椎体骨折の治療として確立された治療指針はなく、一般的に、安静臥床およびその後の体幹ギプス固定、コルセット装着による保存療法<sup>2)</sup>が行われ、多くの症例では疼痛が軽快する。しかし、一定期間の保存治療にもかかわらず、骨癒合が得られず椎体偽関節を生じ、偽関節部での異常可動性によって生じると思われる強い疼痛によっ

て、寝たきりを余儀なくされることもある。

近年、国内外でも骨粗鬆症性椎体骨折偽関節例に対して、侵襲の少ない椎体形成術<sup>3-7)</sup>が広く行われ、その優れた除痛効果などが報告されている。椎体骨折後早期に偽関節の危険因子を同定できれば、不必要な保存的治療の期間を短縮し、椎体形成術を施行することが可能となるが、その因子は解明されていない。

今回われわれは椎体骨折後の予後不良因子、特に偽関節へ移行する危険因子を特定すべく、受傷後早期のMRI画像について検討を加えたので報告する。

**I. 対象および方法**

対象は、大阪市立大学整形外科およびその関連施設を受診した新鮮骨粗鬆症性椎体骨折で、受傷後より1週以内にMRIを実施でき、6カ月以上その後の経過を観察することができた58例62椎体とした。

性別の内訳は、男性7例、女性51例で、受傷時年齢は、56～90歳の平均73.7歳であった。いずれの症例も骨粗鬆症に伴う椎体骨折例であった。

**Key words▶**

osteoporosis (骨粗鬆症)

vertebral fracture (椎体骨折)

magnetic resonance imaging (核磁気共鳴画像)

\*大阪市立大学大学院医学研究科 整形外科学  
(〒545-8585 大阪市阿倍野区旭町1-4-3)

\*\*大阪市立総合医療センター 整形外科

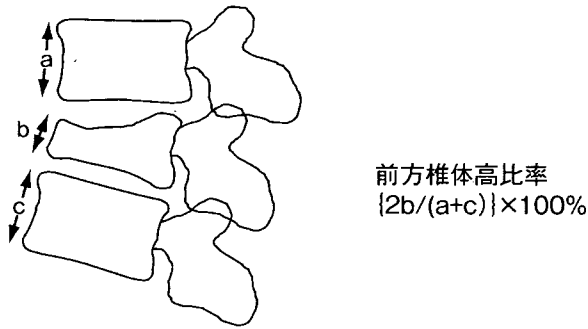


図1 前方椎体高比率  
単純X線側面にて計測

受傷後6カ月の時点で、単純X線側面像にて受傷椎体に Vacuum Cleft を認めるものか、前後屈にて椎体内に異常可動性を認めるものを偽関節(以下、偽関節群)とし、骨癒合がみられた症例群(以下、骨癒合群)と比較検討を行った。

受傷時および6カ月経過観察時の単純X線側面像において、隣接椎体の前方椎体高に対する骨折椎の前方椎体高の比率を算出し、前方椎体高比率として検討を加えた(図1)。

またMRIは受傷当日から7日、平均3.8日に撮影されていた。これら早期MRI像につ

いて以下のごとく検討を加えた。

MRI T1強調矢状断像における低輝度領域の広がりにて3型に分類を行った。椎体中央部の矢状断像で低輝度領域が限局しているものを部分型(Partial type)とした。次に椎体全体に変化が及んでいる症例群において、正中部より2スライス外側の傍正中部における低輝度領域の面積をNIH imageを用いて測定し、その面積が正中部の変化と比較して50%以上の症例を全体型(Total type)、50%未満を亜全体型(Subtotal type)として検討を加えた(図2)。

T2強調矢状断像においては、椎体中央での輝度変化とその広がりに基づいて5タイプに分類を行った。椎体に輝度変化を認めないものをN typeとした。低輝度変化を認めるものを局所的なものと同範囲にみられるものに分類し、それぞれ低輝度局所型(LP type)、低輝度広範囲型(LW type)とした。高輝度変化を認めるものも同様に、高輝度局所型(HP type)、高輝度広範囲型(HW type)とした(図3)。椎体後壁損傷の有無に対する検討は、T2強

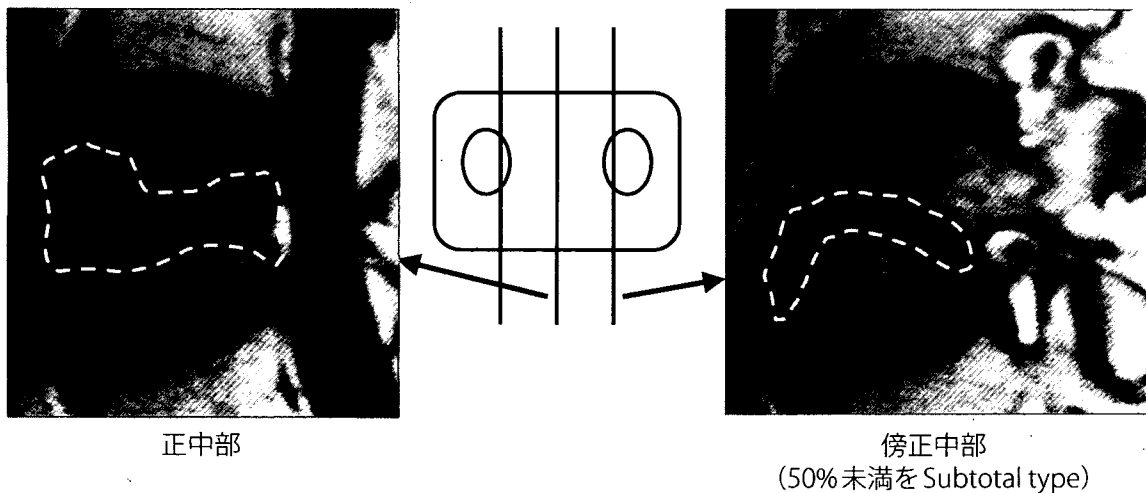


図2 MRI T1強調矢状断像での分類、評価

正中部とそれより2スライス辺縁の傍正中部における低輝度領域の面積をNIH imageを用いて測定。低輝度領域の面積が正中部の変化と比較して50%以上の症例をTotal type、50%未満をSubtotal typeと分類した。



低輝度局所型 (LP type)



低輝度広範囲型 (LW type)



高輝度局所型 (HL type)



高輝度広範囲型 (HW type)

図3 MRI T2強調矢状断像での分類  
椎体中央矢状断像での輝度変化, 領域にて分類した.

調矢状断正中像で行い, 受傷椎体の後壁が椎体上下端から明らかに膨隆しているものを後壁損傷ありとした.

また統計学的解析にはSAS 9.1を用いて行い, 危険率5%未満で有意差ありとした.

## II. 結果

骨癒合群は48例52椎体に認めた. 一方, 偽関節群は10例10椎体に認め, 全例女性であった. 受傷時の平均年齢はそれぞれ73.7歳, 73.8歳と差がなかった.

全対象例の骨折レベルはL1レベルで30例と最も多く, Th11からL2までの胸腰椎移行

部で80.6%を占めていた. 偽関節群についてみると, 1例を除き9例で胸腰椎移行部レベルであった. 特に, Th12では11例中4例(36.4%)と偽関節へ移行する比率が高かった(図3).

骨癒合群と偽関節群の初診時での平均前方椎体高比率は, 81.3%, 77.1%とほとんど差はなかったが, 最終時には, 骨癒合群の椎体高比率63.5%に対して, 偽関節群は48.4%と後者において椎体圧潰はより高度であった(図5).

MRI T1強調像における低輝度領域と偽関節発生の検討では, 局所型, 亜全体型でそれ

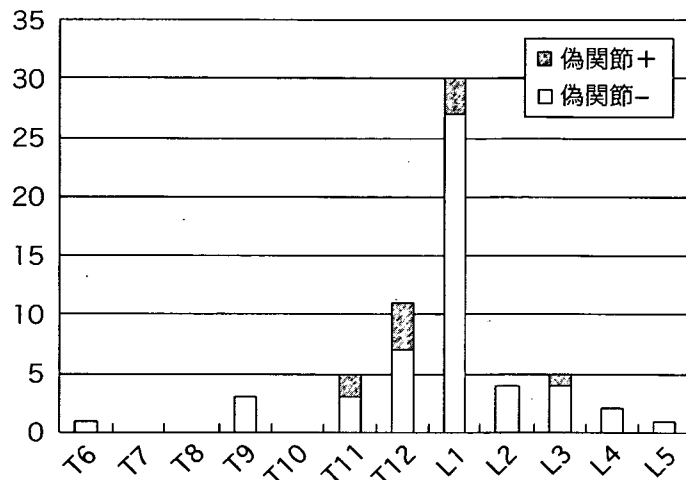


図4 椎体骨折レベル別総数と偽関節数  
偽関節例11例中10例で胸腰椎移行部であった。

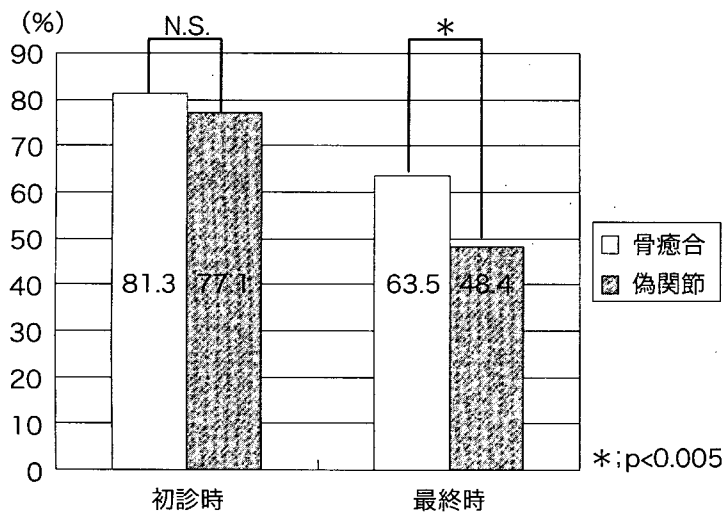


図5 平均前方椎体高比率

ぞれ18例，14例に1例ずつ偽関節を認めたのみであったが，全体型では30椎体中8例(26.7%)に偽関節を認めた。

T2強調像における輝度変化，領域と偽関節発生 の検討では，低輝度局所型では29椎体中1例のみ偽関節を生じなかったのに対して，低輝度広範囲型では12椎体中5例(41.6%)と高率に偽関節を認めた。また，高輝度広範囲型では，偽関節を認めなかったのに対して，高輝度局所型では，6椎体中4例(66.7%)と

高頻度に偽関節を認めた。

T1, T2の輝度変化をともに考慮して偽関節発生 の検討を行うと，T1の低輝度変化が椎体内に広範囲にみられる全体型で，T2の低輝度変化が広範囲にみられるものと，限局した高輝度変化がみられるもので，それぞれ8例中4例(50%)，5例中3例(60%)と半数以上の症例で偽関節を生じていた(表1)。T1が低輝度全体型かつT2で低輝度広範囲型とT1で全体型かつT2で高輝度限局型の症例群で，



表1 MRI T1, T2強調像における偽関節発生(偽関節数/総数)

	T1		T2		
	LW	LP	HW	HP	N
Total	4 / 8	1 / 12	0 / 1	3 / 5	0 / 4
Subtotal	1 / 3	0 / 6	0 / 2	0 / 0	0 / 3
Partial	0 / 1	0 / 11	0 / 4	1 / 1	0 / 1

表2 早期MRI T1, T2強調像からみた偽関節発生の危険因子

例数	偽関節群	骨癒合群	univariate		multivariate (age-adjusted)	
			オッズ比(95%信頼区間)	p値	オッズ比(95%信頼区間)	p値
T1 Total+T2 LW	4	4	15.3 (2.50~93.9)	0.003	15.0 (2.45~92.5)	0.004
MRI T1 Total+T2 HP	3	2	23.0 (2.72~195)	0.004	25.0 (2.69~233)	0.005
その他	3	46		1		

表3 椎体後壁損傷の有無と偽関節発生の割合

後壁損傷の有無	偽関節率
	あり 5 / 13 (38.5%)
	なし 5 / 49 (10.2%)

( ) ; 偽関節率

それら以外の組み合わせの症例群に対する偽関節発生のオッズ比はそれぞれ15.3, 23と高く, 早期MRI所見からの偽関節発生の危険因子と考えられた(表2).

椎体の後壁損傷がなかった49椎体中で偽関節へ移行したのは5例(10.2%)のみであったが, 損傷があった13椎体では5例(38.5%)で偽関節となった(表3). 後壁損傷を認めたもので, MRIの輝度変化をみるとT1強調像においては亜全体型の2例以外は全体型であった. T2強調像においても8例が低輝度広範囲型でそのうち3例で偽関節を認めた.

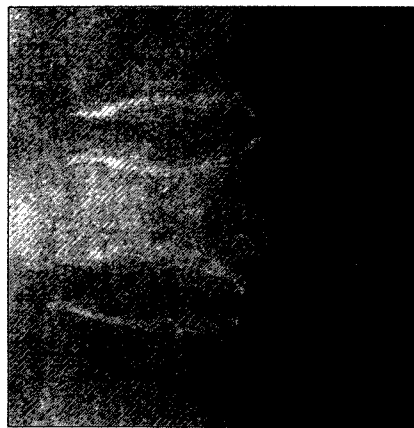
### Ⅲ. 症例提示

症例1:71歳, 女性. 自宅にて転倒し腰背部痛出現. 同日近医受診しTh12の椎体骨折を指摘された. 受傷3日後のMRI, T1, T2強調像で広範囲に低輝度変化を認めた. 受傷6カ月後の単純X線側面ではvacuum cleftが認められた(図6).

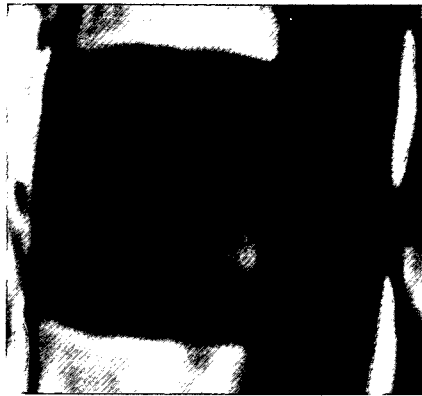
症例2:77歳, 女性. 誘因なく腰背部痛出現. 疼痛出現後, 7日目に近医受診し, L1の椎体骨折を指摘された. 同日のMRI, T1強調像ではtotal typeで, T2強調像では局所の高輝度変化を認めた. 6カ月後の単純X線側面ではvacuum cleftが認められ, 疼痛が残存している(図7).

### Ⅳ. 考察

骨粗鬆症に併発する骨折の中で脊椎椎体骨折は, 局所の変形を惹起するものの経時的に骨癒合は進行し, ほとんどの症例では臨床上的問題点は少ない. しかし, 椎体不安定性に



単純X線側面(初診時)



T1強調像(T type)



T2強調像(LW type)



単純X線側面(6カ月後)

図6 症例1:71歳, 女性, Th12骨折(偽関節例)

71歳女性, Th12骨折例である。MRIのT1, T2強調像とともに広範囲低輝度変化が認められる。6カ月後の単純X線では椎体内にCleft像がみられ, 偽関節像を呈している。

よる神経障害や持続性疼痛を惹起する椎体偽関節<sup>8)</sup>が約10~14%に生じるという報告<sup>9,10)</sup>もある。

偽関節発生の危険因子として, 種市らは日常生活動作レベルの極めて軽微な受傷をあげている<sup>10)</sup>。以前に, われわれの行った検討でも, 偽関節例においては明らかな外傷歴を認めたものは約4分の1しかなく, 多くの症例では受傷原因が不明であった<sup>11)</sup>。偽関節を生じる症例は骨癒合例と比べてより骨脆弱性が強い可能性が存在し, 立ち上がりや腰を捻ったといった, ごく軽度の負荷で腰背部痛が出現したと考えられる。これらの症例では重篤感が少なく, 病院への受診が遅れ, さらに治療開始の遅れが, 偽関節を生じる一因になっ

た可能性も考えられる。

骨粗鬆症性椎体骨折のMRIの評価として中野らは, MRIのT1強調矢状断像の椎体中央の低輝度領域により3型に分類し報告<sup>12)</sup>している。また, Kanchikuらも6型に分類し低輝度領域が椎体全体に認めるtotal typeやそれが後方部に限局して認めるposterior typeでは椎体の圧潰が進行する可能性があり, さらに詳細な分類が必要とも述べている<sup>13)</sup>。また, 最近, 椎体骨折の受傷早期に造影MRIやdynamic MRIを行い, 損傷椎体の圧潰の進行の予測に有用であるという報告もされている<sup>14-16)</sup>。しかし, 骨粗鬆症性椎体骨折全例に造影MRIを行うことは実際の臨床診療上困難と思われる。



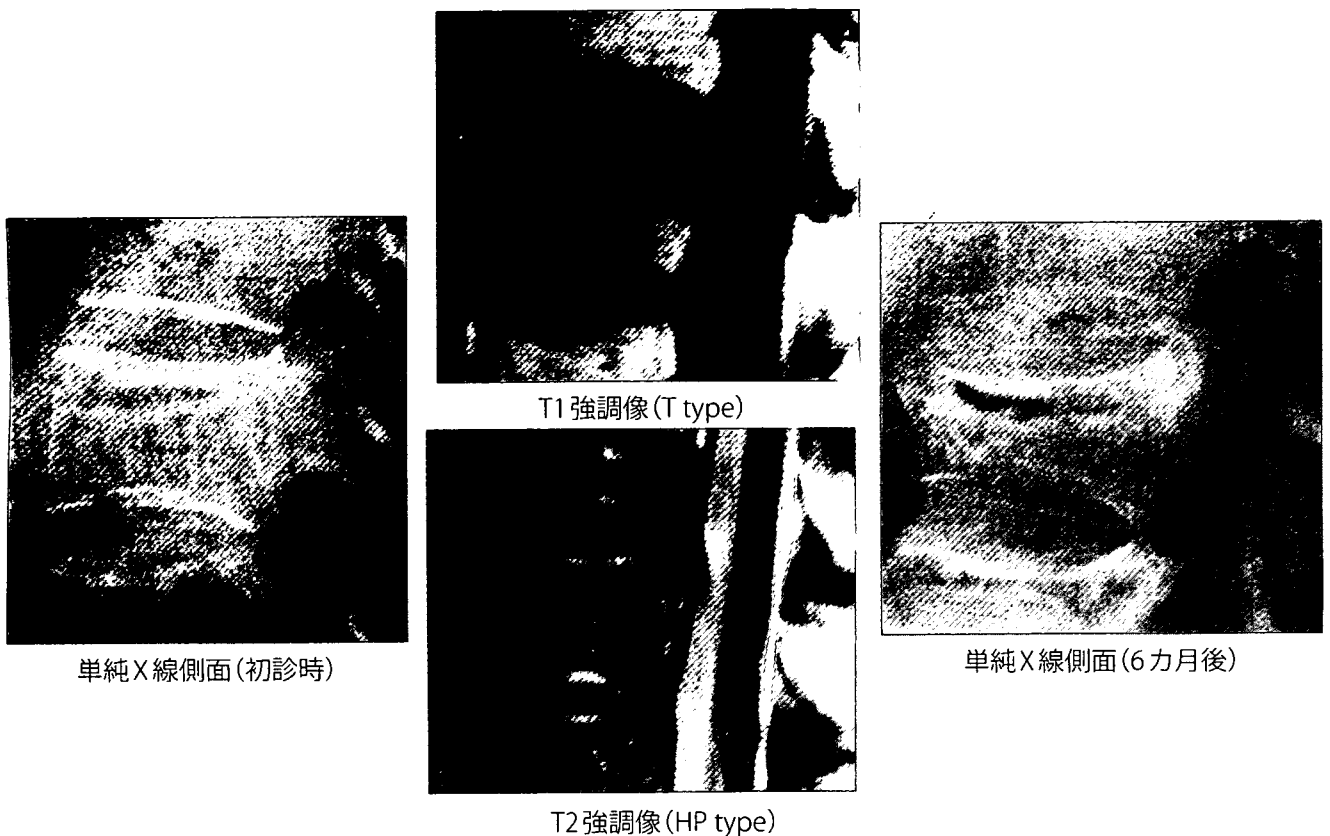


図7 症例2:77歳, 女性, L1骨折(偽関節例)

77歳女性, L1骨折例である。MRIのT1強調像で広範囲低輝度変化, T2強調像で局所の高輝度変化が認められる。6カ月後の単純X線では椎体内にCleft像がみられ, 偽関節像を呈している。

今回, われわれはT1強調矢状断像の椎体中央の低輝度領域の評価に加え, 傍正中部での輝度変化についても検討を加えた。正中部低輝度性変化が広範囲に認められる症例においても, 傍正中にこれらの変化が存在しない場合には, 損傷を免れた椎体部分が残存しており, 偽関節へと移行する症例は少なかった。椎体中央部のみならず, 傍正中にも低輝度性変化が及んでいる場合, 椎体全体の損傷が大きく, 高度な圧潰や偽関節が生じやすいと考えられた。一方, T2強調像における検討でも, 広範囲に低輝度を呈する症例で偽関節への移行が多かった。従来, 椎体骨折の新鮮例はT2強調像で高輝度を呈すると報告されてきた<sup>17)</sup>。しかし, Kanchikuらは新鮮な椎体骨折49例中6例にT2強調像でも低輝度を

認めたと報告<sup>13)</sup>していた。今回の検討では, T2強調像において, 低輝度例は41椎体と半数以上に認められた。

椎体骨折後早期MRIにおける輝度変化と組織学的な変化の対比を試みると, T2強調像における部分的な低輝度は骨折線, 全体的な高輝度は椎体内浮腫と考えられその予後は良好であると考えられる。

一方T1, T2強調像でともに低輝度変化が広範囲である場合, デオキシヘモグロビンを含んだ椎体内の広範囲血腫が示唆され, これは広範囲に椎体内の骨梁が損傷された結果と考えられる。T2強調像で高輝度変化を境界明瞭に局所に認めたものは, 水分含量が多い血腫の亜急性期像を観察している可能性がある(表4)。MRIによる血腫の信号は, 出血の時

表4 MRIにおける輝度変化と組織学的変化との関係

T1輝度	T2輝度	組織との比較	予後
低輝度	広範囲低輝度	急性期の血腫?	不良
低輝度	部分的低輝度	骨折線	良
低輝度	全体的な高輝度	椎体内浮腫	良
低輝度	局所高輝度	亜急性の血腫?	不良

期、ヘモグロビンの状態、部位による酸化の違いにより多彩であり、椎体内での酸化の進行程度は不明である。椎体内の高範囲な骨梁の損傷や血腫が存在すると骨癒合不全の原因となり、偽関節へ移行する危険が高まると考えられる。

高齢者の骨粗鬆症性椎体骨折後の偽関節は複数の要因により生じると考えられ、その予測は困難である。しかし、今回、受傷後早期に撮影されたMRIに対する検討から、T1強調像で低輝度性変化が広範囲にみられ、T2強調像でも広範囲に低輝度を呈する場合やまたはT2強調像では限局した高輝度を呈する場合は偽関節へ移行する因子として高いオッズ比を示し、偽関節発生を予見するうえで有用であった。

### まとめ

1) 骨粗鬆症に伴う椎体骨折後6カ月以上経過観察が可能であった58例62椎体に対して早期MRI所見と偽関節発生との関係を検討した。

2) 早期MRIで椎体内の広範な血腫を示すと考えられるT1、T2強調像における低輝度変化の広がり水分含量の多い血腫を示すと考えられるT2強調像での局所の高輝度変化は骨粗鬆症性椎体骨折後に偽関節を生じる危険因子であった。

### 文 献

- 1) 曾根照喜, 福永仁夫: 我が国における骨粗鬆症有病率と国際比較. 日本臨床62増刊2: 197-200, 2004
- 2) 佐々木邦夫: 骨粗鬆症性脊椎椎体骨折の保存的治療. MB Ortho 18: 35-44, 2005
- 3) John D, Bar MD, Michelle S et al: Percutaneous vertebroplasty for pain relief and spinal stabilization. Spine 25: 923-928, 2000
- 4) Steven R. Garfin, Hansen A et al: New Technologies in spine. Kyphoplasty and Vertebroplasty for the treatment of painful osteoporotic compression fracture. Spine 26: 1511-1515, 2001
- 5) 武政龍一, 山本博司, 谷 俊一, 他: 骨粗鬆症性椎体骨折に対するリン酸カルシウム骨ペースト注入による椎体内修復術. 臨整外37: 457-465, 2002
- 6) 星野雅俊, 中村博亮, 高岡邦夫: 骨粗鬆症性椎体骨折に対する内視鏡とバルーンを用いた椎体形成術. 新OSNOW 27: 84-90, 2005
- 7) Hoshino M, Nakamura H, Konishi S et al: Endoscopic vertebroplasty for the treatment of chronic vertebral compression fracture. J Neurosurg Spine 5: 461-467, 2006
- 8) Hasegawa K, Homma T, Uchiyama S et al: Vertebral Pseudarthrosis in the Osteoporosis Spine. Spine 23: 2201-2206, 1998
- 9) Kim DY, Lee SH, Jang JS et al: Intravertebral vacuum phenomenon in osteoporotic compression fracture: report of 67 cases with quantitative evaluation of intravertebral instability. J Neurosurg (Spine 1): 100: 24-31, 2004
- 10) 種市 学, 金田清志, 小熊忠数, 他: 骨粗鬆症性椎体圧潰(偽関節)発生リスクファクター解析. 臨整外37: 437-442, 2002
- 11) 辻尾唯雄, 中村博亮, 星野雅俊, 他: 骨粗鬆症

- 性脊椎椎体骨折における予後不良因子の検討.  
臨整外41:499-506, 2006
- 12) 中野哲雄, 阿部靖之, 清水泰宏, 他: 麻痺のない骨粗鬆症の圧迫骨折はどのように治療すべきか. 別冊整形外科37:177-180, 2000
- 13) Kanchiku T, Taguchi T, Kawai S et al: Magnetic resonance imaging diagnosis and new classification of the osteoporotic vertebral fracture. J Orthop Sci 8:4634-4666, 2002
- 14) Cho T, Matsuda M, Sakurai M: MRI findings on healing process of vertebral fracture in osteoporosis. J Orthop Sci 1:16-33, 1996
- 15) Kanchiku T, Taguchi T et al: Dynamic Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Imaging of Osteoporotic Vertebral Fracture. Spine 28:2522-2526, 2003
- 16) 山口 研, 大谷晃司: 骨粗鬆症性脊椎圧迫骨折におけるMRI像と椎体変形の予後との関連. 臨整外38:1409-1503, 2003
- 17) 滝野哲也, 高橋啓介, 宮崎俊聡, 他: 骨粗鬆症性脊椎圧迫骨折に対するMRIの診断価値. 整形・災害37:817-823, 1994

\*

\*

\*

# **Enhancing Effects of a Prostaglandin EP4 Receptor Agonist on Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2 Mediated Spine Fusion in a Rabbit Model**

Takashi Namikawa, MD, Hidetomi Terai, MD, PhD, Masatoshi Hoshino, MD,  
Minoru Kato, MD, Hiromitsu Toyoda, MD, PhD, Koichi Yano, MD,  
Hiroaki Nakamura, MD, PhD, and Kunio Takaoka, MD, PhD

# Enhancing Effects of a Prostaglandin EP4 Receptor Agonist on Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2 Mediated Spine Fusion in a Rabbit Model

Takashi Namikawa, MD, Hidetomi Terai, MD, PhD, Masatoshi Hoshino, MD, Minori Kato, MD, Hiromitsu Toyoda, MD, PhD, Koichi Yano, MD, Hiroaki Nakamura, MD, PhD, and Kunio Takaoka, MD, PhD

**Study Design.** An experimental animal study aimed at achieving posterolateral intertransverse process fusion with rhBMP-2 in combination with the local delivery of an EP4 receptor agonist.

**Objective.** To determine whether an EP4 receptor agonist (EP4A) can reduce the amount of BMP required to achieve posterolateral spinal fusion in rabbits.

**Summary of Background Data.** In the clinic, BMP retaining implants are used for spinal fusion and the treatment of pseudarthrosis after long bone fracture. However, the requirement of high doses of BMP-2 for bone formation in humans makes the implants expensive and limits their use in the clinic. Previous studies in our laboratory using a new delivery system involving a synthetic polymer/ $\beta$ -TCP powder composite had shown it was possible to reduce the total BMP-2 amount to 30  $\mu$ g per fusion in a rabbit model. To further reduce the dose of BMP required for a successful fusion, we explored the use of a chemical compound to enhance the bone-inducing action of BMP-2.

**Methods.** In order to prepare 1 implant to bridge the unilateral L5 and L6 transverse processes, 300 mg of polymer gel (PLA-DX-PEG block copolymer), 300 mg of  $\beta$ -TCP powder, rhBMP-2 (7.5, 3.75, or 0  $\mu$ g) with or without EP4A (45  $\mu$ g) were mixed and manually shaped to resemble a rod. Through a posterolateral approach, 2 implants were placed on both sides (1 per side) by surgery in order to bridge the transverse processes of adult New Zealand white rabbits ( $n = 48$ ). The lumbar vertebrae were recovered 6 weeks after surgery. The posterolateral fusion was examined by manual palpation, radiography, biomechanical testing, and histology.

**Results.** All of 8 rabbits that received 7.5  $\mu$ g of BMP-2 and EP4A consistently showed fusion by significant amount of new bone formation. However, solid fusion was seen in only 3 of 8 rabbits that received 7.5  $\mu$ g of BMP-2 without the EP4 receptor agonist.

**Conclusion.** Local administration of an EP4 receptor agonist enhanced the bone-inducing activity of BMP-2 in

a rabbit posterolateral lumbar spinal fusion model and as a result, the dose of BMP-2 required for this outcome was reduced by 50% compared with our previous report. The coadministration of this compound via a local delivery system may help to reduce the costs of spine fusion with use of BMP-2 in the clinic.

**Key words:** animal model, bone morphogenetic protein, EP4 receptor agonist, spinal fusion. **Spine 2007;32:2294-2299**

Autogenous bone grafting is a routine method to achieve posterolateral lumbar spinal fusion. However, nonunion is a major problem with this method, especially when used in the absence of fixation devices.<sup>1,2</sup> Additional problems associated with bone graft harvesting are pain, skin scars, and deformity at donor site.<sup>3,4</sup> To overcome these problems, a new technology or approach to promote bone formation in order to achieve secure solid spinal fusion without bone grafting is desired. To this end, bone graft substitutes with the capacity to promote new bone formation have been devised using bone morphogenetic proteins (BMPs) produced by DNA recombination technology. Bone morphogenetic protein (BMP-2) retaining implants (e.g., INFUSE) are the forefront products and clinical studies have demonstrated their efficacy for interbody spinal fusion.<sup>5,6</sup> However, the challenges limiting the widespread use of BMPs in the clinic are the cost and performance of the protein together with the availability of a safe, convenient delivery system.

In terms of a delivery system for BMP, bovine collagen is currently used, but this material retains the potential risk of immunologic reaction from the host and transmission of diseases such as variant Creutzfeldt-Jacob disease (vCJD).<sup>7,8</sup> To solve these issues, various synthetic polymers have been developed.<sup>9,10</sup> We have also created new biodegradable synthetic polymer based on poly-D,L-lactic acid with a random insertion of a p-dioxanone/polyethylene glycol block copolymer (PLA-DX-PEG).<sup>11-16</sup> These synthetic carrier materials have the potential to replace collagen as a delivery vehicle for BMPs.

The high cost of the BMPs is another barrier that limits the wider use of BMP-based implants in the clinic. For example, due to the low responsiveness to BMPs in humans, milligram quantities of these proteins are required to achieve a single level of spinal fusion. To reduce

From the Department of Orthopaedic Surgery, Osaka City University Graduate School of Medicine, Osaka, Japan.

Acknowledgment date: July 25, 2006. First revision date: February 26, 2007. Acceptance date: April 11, 2007.

Supported by a grant from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan (Project Grant Nos. 16790853 and 16109009).

The legal regulatory statues of the device(s)/drug(s) that is/are the subject of this manuscript is not applicable in my country.

Other funds were received in support of this work. No benefits in any form have been or will be received from a commercial party related directly or indirectly to the subject of this manuscript.

Address correspondence and reprint requests to Takashi Namikawa, MD, Department of Orthopaedic Surgery, Osaka City University Graduate School of Medicine, 1-4-3 Asahi-machi Abeno-ku Osaka City, Osaka, Japan; E-mail: namikawa@msic.med.osaka-cu.ac.jp

the expense involved with the use of BMP in the clinic, the enhancement of BMP action as well as reduction in the production cost of the recombinant BMP are 2 possible approaches. Consequently, the development of a more sophisticated delivery system and the use of drugs to enhance BMP action would ultimately lead to more cost effective BMP-based therapeutics.<sup>11-16</sup>

In a previous report from our laboratory, the PLA-DX-PEG polymer/ $\beta$ -tricalcium phosphate ( $\beta$ -TCP) powder mixture showed successful posterolateral spinal fusion with a low dose of rhBMP-2 (15  $\mu$ g/side). This amount was approximately one sixth of that used previously with various carrier materials in the rabbit model.<sup>17</sup>

We have also reported previously that a prostaglandin E2 (PGE2) EP4 receptor selective agonist (EP4A) compound (ONO-4819) specifically enhanced BMP-induced bone formation in *in vivo* experiments.<sup>18,19</sup> Therefore, we concluded that addition of the ONO-4819 into the BMP-2 retaining PLA-DX-PEG/ $\beta$ -TCP composite implants might help to reduce the BMP dose required to achieve consistent spinal fusion.

Therefore, the purpose of this study was to evaluate the ability of an EP4 receptor agonist (ONO-4819) to enhance BMP-2 action and thereby reduce the amount of BMP required to achieve posterolateral spinal fusion in rabbits.

## Materials and Methods

**EP4A.** The PGE2 receptor EP4-selective agonist (ONO-4819); methyl 7-[(1R, 2R,3R)-3-hydroxy-2-[(E)-(3S)-3-hydroxy-4-(m-methoxymethylphenyl)-1-butenyl]-5-oxocyclopentyl]-5-thiaheptanoate (Patent Cooperation Treaty No. WO 00/03980) was obtained from Ono Pharmaceuticals Co. (Osaka, Japan).

**rhBMP-2.** RhBMP-2 was produced by Genetics Institute (Cambridge, MA) and donated to us through Astellas Pharma Inc. (Tokyo, Japan).

**PLA-DX-PEG Polymer.** Poly-D, L-lactic acid with a random insertion of p-dioxanone/polyethylene glycol block copolymer (PLA-DX-PEG, MW; 12,400, LA/DX/EG molar ratio; 42/14/44), was produced and provided to us by Taki Chemical Co. (Kakogawa, Japan). The details of the chemical formula, physicochemical characteristics and efficacy as a carrier material for rhBMP-2 of the PLA-DX-PEG have been reported previously.<sup>7,8</sup>

**$\beta$ -TCP Powder.** Biodegradable  $\beta$ -TCP powder (<100  $\mu$ m particle diameter) was manufactured and provided to us by Olympus Biomaterial Corp. (Tokyo, Japan).

**Preparation of Bone-Inducing Implants for Spinal Fusion.** In order to prepare 1 implant to bridge unilateral L5 and L6 transverse processes, 300 mg of  $\beta$ -TCP powder, 300 mg of PLA-DX-PEG block copolymer, 45  $\mu$ g of EP4A, and either of 2 dosages of rhBMP (7.5 and 3.75  $\mu$ g) were mixed and stirred with a metal rod at 50°C for several minutes. The amount of EP4A was determined based on our previous study.<sup>19</sup> The resultant paste was then cooled and fabricated by hand to form a rod-shaped implant. The rod implants were stored at -30°C

**Table 1. Implant Assignment**

Group	n	EP4A ( $\mu$ g)	rhBMP-2 ( $\mu$ g)	$\beta$ -TCP (mg)	PLA-DX-PEG (mg)
EP4A + BMP7.5	8	45	7.5	300	300
BMP7.5	8	0	7.5	300	300
EP4A + BMP3.75	8	45	3.75	300	300
BMP3.75	8	0	3.75	300	300
EP4A + BMP0	8	45	0	300	300
BMP0	8	0	0	300	300

until use. Standard implants made of  $\beta$ -TCP powder (300 mg)/PLA-DX-PEG (300 mg)/rhBMP-2 (7.5 or 3.75  $\mu$ g) without EP4A were prepared in the same manner. Control implants consisting of 300 mg of  $\beta$ -TCP powder, 300 mg of PLA-DX-PEG, 0 or 45  $\mu$ g of EP4A without rhBMP-2 were also prepared in the same manner.

**Surgery and Experimental Protocols.** Forty-eight New Zealand white rabbits (age, 1-2 years old; weight, 3.5-4.5 kg) were divided randomly into 6 groups depending on based on the type of implant placed into the intertransverse processes space. Before surgery, the animals were anesthetized with an intramuscular injection of ketamine (30 mg/kg) and xylazine (10 mg/kg). Cefazolin (100 mg) was administered subcutaneously as a prophylactic antibiotic. Each rabbit underwent surgery for a single level posterolateral intertransverse process fusion at L5-L6.<sup>17,20</sup> A dorsal midline skin incision was made over L5-L6, followed by 2 paramedian fascial incisions. The intermuscular plane between the multifidus and longissimus muscles was retracted to expose the transverse processes of L5 and L6 and the intertransverse membrane. An electric-driven burr (Stryker, Kalamazoo, MI) was used to decorticate posterior cortex of the respective transverse process. One of the implant materials listed in Table 1 was placed to bridge the transverse processes. The wounds were then closed with 3-0 absorbable and 3-0 nylon sutures. Six weeks after surgery, the animals were killed by an overdose of anesthetics and the L4-L7 lumbar spines were harvested and processed for further examination. This protocol was approved by the Institutional Committee for Animal Care and Experiments of Osaka City University Medical School.

**Radiologic Evaluation.** The L5-L6 spines from each group animals were examined by posteroanterior plain radiographs sequentially at 2, 4, and 6 weeks after surgery. From the harvested lumbar spine samples, soft tissues were removed and plain radiographs were repeated.

**Manual Palpation.** The harvested lumbar spines were manually palpated by stressing flexion and extension at the fusion level and comparing with the adjacent levels. Each motion segment was graded as solid or not solid.

**Biomechanical Testing.** Biomechanical testing to evaluate the solidity of the L5-L6 fusion site was performed by a 3-point flexion bending test using a materials testing machine (EZ Graph, Shimadzu Corp., Kyoto, Japan). Three-point bending tests were performed with a 30-mm intersupport distance and a 1-mm/min head speed of the detector. The bending load at 1 mm middle-span deflection was determined from the load-deflection curves.

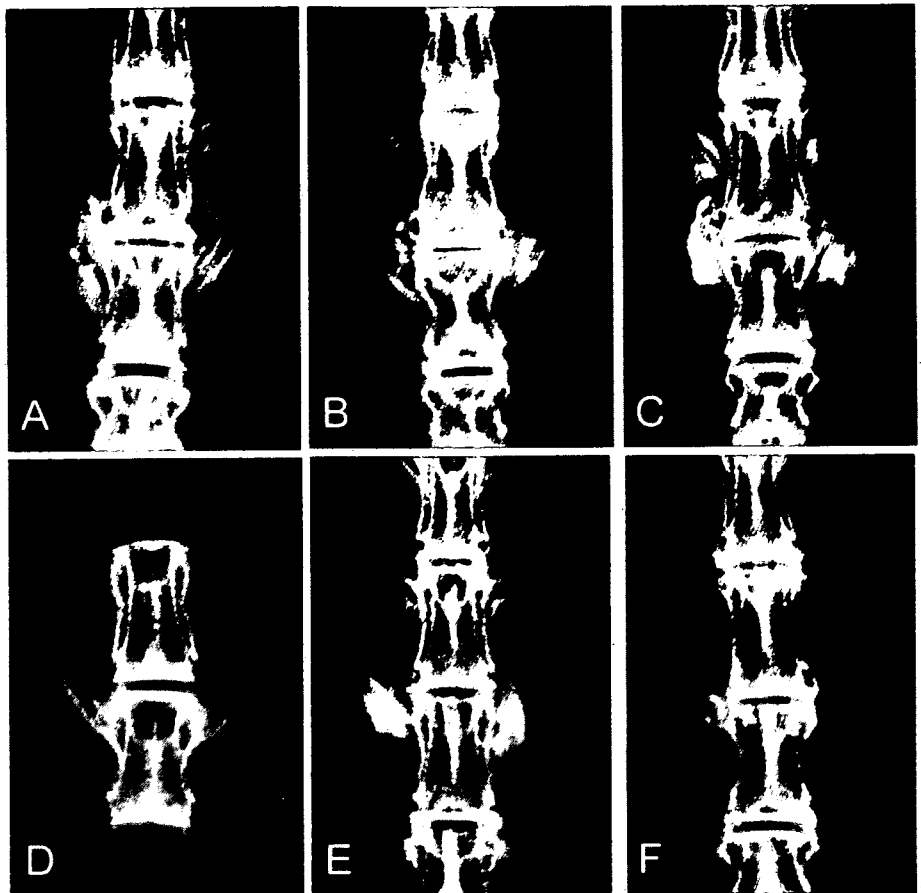


Figure 1. Harvested lumbar spine 6 weeks after surgery. EP4A + BMP7.5 (A), BMP7.5 (B), EP4A + BMP3.75 (C), BMP3.75 (D), EP4A + BMP0 (E), BMP0 (F). Fusion mass is visible between the L5-L6 transverse process in the case of EP4A + BMP7.5, BMP7.5, and EP4A + BMP3.75 groups. Residual  $\beta$ -TCP powder is visible in the case of EP4A + BMP0 and BMP0 groups.

**Histologic Examination.** The harvested specimens were fixed in 10% formalin in neutral buffer solution and decalcified in 10% formic acid solution, dehydrated in a gradient ethanol series, and embedded in paraffin. Sections from the intertransverse process region, cut at 4  $\mu$ m thickness in a sagittal plane, were stained with hematoxylin and eosin. Using a light microscope, the sections were examined for evidence of bony fusion between the newly formed bone and the original transverse processes.

**Statistical Analysis.** Comparisons of biomechanical testing of spines in each group were made using Kruskal-Wallis test. The *post hoc* Scheffé test was performed to determine significant differences between groups. Significance for all tests were defined as  $P < 0.01$ .

## ■ Results

### Radiologic Evaluation

An opaque shadow of  $\beta$ -TCP was noted at the operation site on radiographs immediately after surgery. Radiographs at 6 weeks showed homogeneous calcified shadows between the transverse processes in all animals of the EP4A + BMP7.5 and in some of the BMP7.5, EP4A + BMP3.75 groups (Figure 1).

### Manual Palpation

In all samples of the EP4A + BMP7.5 group, bony hard masses at the intertransverse process were palpable and the passive bending between the vertebrae was significantly restricted. Four of the 8 samples from the EP4A +

BMP3.75 group were evaluated as solid fusion outcomes. In contrast, none of the samples from the EP4A + BMP0 group achieved solid fusion (Table 2).

### Biomechanical Testing

The results from biomechanical testing in each of the experimental groups are shown in Figure 2. The bending load at 1-mm middle-span deflection of the BMP7.5 + EP4A group was significantly larger than in the BMP3.75, EP4A + BMP0, BMP0 groups.

### Histologic Examination

Lower magnification views of sagittal sections (hematoxylin and eosin staining) of fusion mass in an animal from the EP4A + BMP7.5 group showed bone mass with peripheral cortical bone bridging the transverse processes. Higher magnification of the bridging bone mass revealed woven bone. Tiny remnants of the  $\beta$ -TCP powder were also recognized (Figure 3).

Table 2. Fusion Rate Based on Manual Palpation

Group	Solid Fusion	Fusion Rate (%)
EP4A + BMP7.5	8/8	100
BMP 7.5	3/8	37.5
EP4A + BMP3.75	4/8	50
BMP3.75	0/5	0
EP4A + BMP0	0/5	0
BMP0	0/5	0

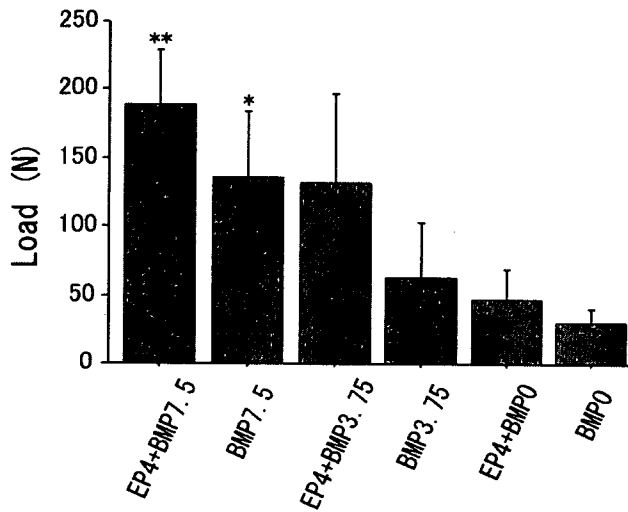


Figure 2. Results of 3-point flexion bending tests for each specimen. These results indicate the fusion sites of EP4A + BMP7.5 group are stiffer than the sites in the other groups. \*\*Statistically significant difference from BMP3.75, EP4A + BMP0, and BMP0 groups. \*Statistically significant difference from EP4A + BMP0 and BMP0 groups.

### Discussion

One of the major challenges facing the broader adoption of BMP in the clinic is the significant amount of BMP required to elicit new bone formation in humans. In previous experimental studies of the rabbit posterolateral intertransverse process spine fusion model, >100  $\mu\text{g}$  of rhBMP-2 was required to achieve the solid 1-level spine fusion in 5 or 6 weeks. This was accomplished by the use of either animal-derived collagen sheets, hydroxyapatite with collagen, an open cell polylactic acid polymer, or sintered bovine bone as the delivery system for rhBMP-

2.<sup>21-27</sup> On the other hand, our previous study had demonstrated that the minimal dose of rhBMP-2 to achieve posterolateral lumbar spinal fusion in a rabbit was 15  $\mu\text{g}$  per in each side when PLA-DX-PEG/ $\beta$ -TCP composite was used as a delivery system for rhBMP-2.<sup>17</sup> Interestingly, with the use of this carrier material, the dose of rhBMP-2 was significantly lower than previous studies. The work described in the present paper revealed that it was possible to further reduce the BMP-2 dose required for spinal fusion in the rabbit model by addition of a low dose of an EP4 receptor agonist to the local delivery system. Thus, we concluded that the EP4A compound enhances the bone forming action of rhBMP-2. These results suggest that the combination of an EP4 receptor agonist with rhBMP-2 is a viable approach for promoting solid spinal fusion.

EP1, EP2, EP3, and EP4 are the 4 PGE2 receptor subtypes. EP4 is thought to mediate the anabolic action of PGE2 on osteoblastic cells.<sup>28</sup> Some *in vitro* studies have revealed that PGE2 promotes osteoblastic differentiation *via* EP2 and EP4 receptors and several studies have reported that administration of either EP2 receptor agonist or EP4 receptor agonist stimulate bone formation.<sup>28-38</sup> However, Yoshida *et al* have reported that the anabolic effect of PGE2 was mediated exclusively through EP4 and local administration of a selective EP4 receptor agonist increased bone formation in a rat femur. They also noted that the general administration of an EP4 receptor agonist restored bone mass and strength lost in rat subjected to ovariectomy or immobilization.<sup>38</sup> The EP4 receptor mediates increases in intracellular cyclic nucleotides (cAMP) concentration. Thus, the action of an EP4 receptor agonist may be similar to that of parathyroid hormone (PTH), and a phosphodiesterase-4 (PDE-4)-

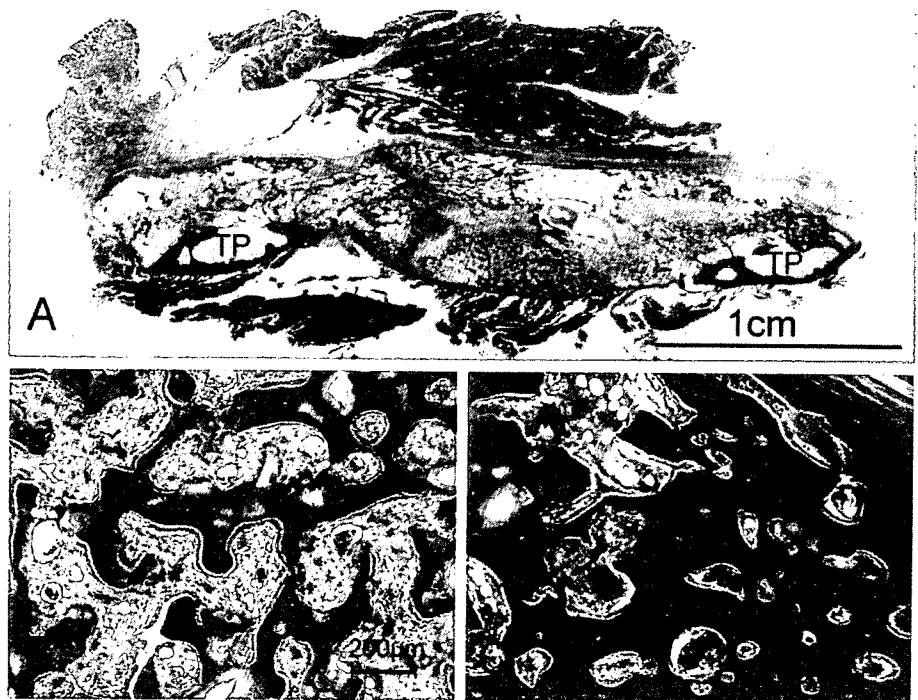


Figure 3. Hematoxylin and eosin-stained sagittal section of L5-L6 intertransverse region in EP4A + BMP7.5 group. New bone formation is located between the L5-L6 transverse process (TP); the cortical rim of the transverse processes connecting to fusion bone mass was seen (A, lower magnification; B, higher magnification of the newly formed bone; C, higher magnification of the junctional region between the newly formed bone and the transverse process).



selective inhibitor, which also cause intracellular cAMP accumulation to promote new bone formation in *in vivo* systems. Although daily injection of PTH or a PDE-4 inhibitor (Rolipram) is known to enhance systemic bone formation,<sup>39,40</sup> the precise mechanisms underpinning the anabolic effects remained to be answered.

The results presented here suggest that interplay between intracellular levels of cAMP and the BMP signaling pathway involving the intracellular signaling molecules (Smads) to enhance the BMP's anabolic action on osteoblastic differentiation and bone formation. Additional *in vitro* studies are required to elucidate the detailed mechanisms of cAMP signaling on bone formation. This line of inquiry, currently in progress in our laboratory, will be essential in order to elucidate the mechanism of action mechanism of the EP4 receptor agonist.

## ■ Conclusion

Local release of an EP4 receptor agonist compound (ONO-4819) can enhance the bone-inducing activity of rhBMP-2 when used with a biodegradable polymer (PLA-DX-PEG) as a delivery system in rabbit model of posterolateral lumbar spinal fusion. Consequently, the use of this compound reduced the BMP-2 requirement by half, and this could ultimately reduce the costs associated with the use of BMP-2 therapeutics for spinal fusion in the clinic. Further preclinical studies including tests in nonhuman primates will be required to evaluate the efficacy and safety of this compound for spine fusion.

## ■ Key Points

- The ability of an EP4 receptor agonist to enhance the bone induction potential of BMP-2 was evaluated in a rabbit posterolateral spinal fusion model.
- Rabbits that received 7.5  $\mu$ g of BMP-2 and EP4A consistently showed solid fusion; the presence of the EP4 agonist reduced by half the amount of BMP-2 required to achieve solid fusion in a rabbit model.
- The compound may be a useful adjunct therapeutic to help reduce the costs of spine fusion associated with the use of BMP-2 in the clinic.

## References

1. DePalma AF, Rothman RH. The nature of pseudarthrosis. *Clin Orthop* 1968;59:113-8.
2. Steinmann JC, Herkowitz HN. Pseudarthrosis of the spine. *Clin Orthop* 1992;80-90.
3. Arrington ED, Smith WJ, Chambers HG, et al. Complications of iliac crest bone graft harvesting. *Clin Orthop* 1996;300-9.
4. Kurz LT, Garfin SR, Booth RE Jr. Harvesting autogenous iliac bone grafts: a review of complications and techniques. *Spine* 1989;14:1324-31.
5. Boden SD, Zdeblick TA, Sandhu HS, et al. The use of rhBMP-2 in interbody fusion cages: definitive evidence of osteoinduction in humans: a preliminary report. *Spine* 2000;25:376-81.
6. Burkus JK, Gornet MF, Dickman CA, et al. Anterior lumbar interbody fusion using rhBMP-2 with tapered interbody cages. *J Spinal Disord Tech* 2002;15:337-49.
7. Butler D. Last chance to stop and think on risks of xenotransplants. *Nature* 1998;391:320-4.
8. DeLustro F, Dasch J, Keefe J, et al. Immune responses to allogeneic and xenogeneic implants of collagen and collagen derivatives. *Clin Orthop* 1990; 263-79.
9. Murakami N, Saito N, Horiuchi H, et al. Repair of segmental defects in rabbit humeri with titanium fiber mesh cylinders containing recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) and a synthetic polymer. *J Biomed Mater Res* 2002;62:169-74.
10. Murakami N, Saito N, Takahashi J, et al. Repair of a proximal femoral bone defect in dogs using a porous surfaced prosthesis in combination with recombinant BMP-2 and a synthetic polymer carrier. *Biomaterials* 2003;24: 2153-9.
11. Kato M, Namikawa T, Terai H, et al. Ectopic bone formation in mice associated with a lactic acid/dioxanone/ethylene glycol copolymer-tricalcium phosphate composite with added recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Biomaterials* 2006;27:3927-33.
12. Kato M, Toyoda H, Namikawa T, et al. Optimized use of a biodegradable polymer as a carrier material for the local delivery of recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2). *Biomaterials* 2006;27:2035-41.
13. Matsushita N, Terai H, Okada T, et al. A new bone-inducing biodegradable porous beta-tricalcium phosphate. *J Biomed Mater Res A* 2004;70:450-8.
14. Saito N, Okada T, Horiuchi H, et al. A biodegradable polymer as a cytokine delivery system for inducing bone formation. *Nat Biotechnol* 2001;19: 332-5.
15. Saito N, Takaoka K. New synthetic biodegradable polymers as BMP carriers for bone tissue engineering. *Biomaterials* 2003;24:2187-93.
16. Yoneda M, Terai H, Imai Y, et al. Repair of an intercalated long bone defect with a synthetic biodegradable bone-inducing implant. *Biomaterials* 2005; 26:5145-52.
17. Namikawa T, Terai H, Suzuki E, et al. Experimental spinal fusion with recombinant human bone morphogenetic protein-2 delivered by a synthetic polymer and beta-tricalcium phosphate in a rabbit model. *Spine* 2005;30: 1717-22.
18. Sasaoka R, Terai H, Toyoda H, et al. A prostanoind receptor EP4 agonist enhances ectopic bone formation induced by recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;318:704-9.
19. Toyoda H, Terai H, Sasaoka R, et al. Augmentation of bone morphogenetic protein-induced bone mass by local delivery of a prostaglandin E EP4 receptor agonist. *Bone* 2005;37:555-62.
20. Boden SD, Schimandle JH, Hutton WC. An experimental lumbar intertransverse process spinal fusion model: radiographic, histologic, and biomechanical healing characteristics. *Spine* 1995;20:412-20.
21. Akamaru T, Suh D, Boden SD, et al. Simple carrier matrix modifications can enhance delivery of recombinant human bone morphogenetic protein-2 for posterolateral spine fusion. *Spine* 2003;28:429-34.
22. Itoh H, Ebara S, Kamimura M, et al. Experimental spinal fusion with use of recombinant human bone morphogenetic protein 2. *Spine* 1999;24:1402-5.
23. Konishi S, Nakamura H, Seki M, et al. Hydroxyapatite granule graft combined with recombinant human bone morphogenetic protein-2 for solid lumbar fusion. *J Spinal Disord Tech* 2002;15:237-44.
24. Minamide A, Kawakami M, Hashizume H, et al. Evaluation of carriers of bone morphogenetic protein for spinal fusion. *Spine* 2001;26:933-9.
25. Sandhu HS, Kanim LE, Kabo JM, et al. Effective doses of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in experimental spinal fusion. *Spine* 1996;21:2115-22.
26. Schimandle JH, Boden SD, Hutton WC. Experimental spinal fusion with recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Spine* 1995;20: 1326-37.
27. Suh DY, Boden SD, Louis-Ugbo J, et al. Delivery of recombinant human bone morphogenetic protein-2 using a compression-resistant matrix in posterolateral spine fusion in the rabbit and in the non-human primate. *Spine* 2002;27:353-60.
28. Suda M, Tanaka K, Natsui K, et al. Prostaglandin E receptor subtypes in mouse osteoblastic cell line. *Endocrinology* 1996;137:1698-705.
29. Kasugai S, Oida S, Iimura T, et al. Expression of prostaglandin E receptor subtypes in bone: expression of EP2 in bone development. *Bone* 1995;17: 1-4.
30. Ke HZ, Crawford DT, Qi H, et al. A nonprostanoid EP4 receptor selective prostaglandin E2 agonist restores bone mass and strength in aged, ovariectomized rats. *J Bone Miner Res* 2006;21:565-75.
31. Li M, Ke HZ, Qi H, et al. A novel, non-prostanoid EP2 receptor-selective prostaglandin E2 agonist stimulates local bone formation and enhances fracture healing. *J Bone Miner Res* 2003;18:2033-42.
32. Li X, Pilbeam CC, Pan L, et al. Effects of prostaglandin E2 on gene expression in primary osteoblastic cells from prostaglandin receptor knockout mice. *Bone* 2002;30:567-73.

33. Machwate M, Harada S, Leu CT, et al. Prostaglandin receptor EP(4) mediates the bone anabolic effects of PGE(2). *Mol Pharmacol* 2001;60:36-41.
34. Paralkar VM, Borovecki F, Ke HZ, et al. An EP2 receptor-selective prostaglandin E2 agonist induces bone healing. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:6736-40.
35. Shamir D, Keila S, Weinreb M. A selective EP4 receptor antagonist abrogates the stimulation of osteoblast recruitment from bone marrow stromal cells by prostaglandin E2 in vivo and in vitro. *Bone* 2004;34:157-62.
36. Tanaka M, Sakai A, Uchida S, et al. Prostaglandin E2 receptor (EP4) selective agonist (ONO-4819.CD) accelerates bone repair of femoral cortex after drill-hole injury associated with local upregulation of bone turnover in mature rats. *Bone* 2004;34:940-8.
37. Weinreb M, Machwate M, Shir N, et al. Expression of the prostaglandin E(2) (PGE(2)) receptor subtype EP(4) and its regulation by PGE(2) in osteoblastic cell lines and adult rat bone tissue. *Bone* 2001;28:275-81.
38. Yoshida K, Oida H, Kobayashi T, et al. Stimulation of bone formation and prevention of bone loss by prostaglandin E EP4 receptor activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:4580-5.
39. Horiuchi H, Saito N, Kinoshita T, et al. Effect of phosphodiesterase inhibitor-4, rolipram, on new bone formations by recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Bone* 2002;30:589-93.
40. Neer RM, Arnaud CD, Zanchetta JR, et al. Effect of parathyroid hormone (1-34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 2001;344:1434-41.

骨誘導能を有する rhBMP-2 含有ペーストマテリアル

加藤相勲 中村博亮 並川 崇  
星野雅俊 寺井秀富 高岡邦夫

## 骨誘導能を有する rhBMP-2 含有ペーストマテリアル

加藤 相 勲\*      中村 博 亮\*      並 川 崇\*\*  
星野 雅 俊\*\*      寺 井 秀 富\*\*      高 岡 邦 夫\*\*

### rhBMP-2 含有ペーストマテリアルの開発

骨形成蛋白 (bone morphogenetic protein; BMP) は、未分化間葉系細胞を軟骨細胞、骨芽細胞に分化誘導させるサイトカインであり、生体内で骨を新生する能力を有する。このため BMP は、整形外科治療で重要な骨欠損の修復、骨癒合の促進において、新しい治療法の担い手として期待がかけられている。特に、BMP と適当な担体と組み合わせる局所に埋植し骨形成を促進させるサイトカイン療法は、その有用性が証明されている。

これまでに BMP の担体として動物実験で良好な骨形成能が示されてきたのがウシ由来 I 型コラーゲンであり、欧米では臨床応用されている。しかし、コラーゲンは弱いながらも免疫反応が起きること、プリオンなど未知の病原体が存在する可能性があること、力学的強度に欠けるなど問題点も多く、優れた担体とは言い難い。したがって、①生体親和性が高い、②生体分解性がある、③病原性がない、④コラーゲンと同等かそれを超える骨形成能を有する、⑤安価である、⑥操作性がよいなどの特性を有するより優れた BMP 担体の開発が期待されている。

われわれは生体分解性ポリマーであるポリ乳酸パラジオキサノンポリエチレングリコール共重合体 (PLA-DX-PEG copolymer) を開発し、rhBMP-2 の担体としてすぐれた骨形成能を有していることを証明してきた<sup>1)</sup>。また、その骨形成効率を高めるために、BMP とポリマーの配合条件の検討を行い、ある一定の rhBMP-2 含有濃度以上であれば担体の大きさに伴い骨形成量が増加することを証明し、rhBMP-2 使用量の低減

化が可能であることを示唆してきた<sup>2)</sup>。しかし、本ポリマーの性状は粘着性ゲルであるため用手操作性に問題があった。これを克服するために、ポリマーに骨伝導能を有する  $\beta$ -リン酸三カルシウム ( $\beta$ -TCP) を追加混合したマテリアルを作製し、その成分配合条件を検討した。その結果、rhBMP-2 の骨誘導能を最大限発揮する  $\beta$ -TCP/ポリマー配合比は 1:1~2:1 であり、ポリマー単独使用よりも効率的に骨形成が得られること、当条件下において本材料は、粘着性がなく操作性の良いペースト状のマテリアルとなることを示した (図1)<sup>3)</sup>。さらに rhBMP-2 含有ペーストマテリアルの有用性をウサギ腰椎後側方固定モデルにおいて検討した結果、従来のコラーゲンスポンジを BMP 担体として用いた場合と比較して約 1/6 量の rhBMP-2 で、脊椎固定が可能であることを確認した (図2)<sup>4)</sup>。

### 臨床への応用

骨欠損の部位や形状により要求される修復方法は様々である。例えば、腫瘍切除後に生じた骨欠損の場合、早期の骨癒合と加重負荷が要求される。このような場合、本ペーストマテリアルと力学的強度を有するマテリアルを組み合わせることによって、早期力学的強度が得られる複合マテリアルを作製利用することが可能となる。また、欠損部の形状が複雑であっても本ペーストマテリアルはその形状にあわせての使用が可能であるので効率よく補填することができる。

しかし、今後クリアすべき問題点もある。この担体は吸収性素材として臨床的に使用されている素材の組み合わせであり、安全性は高いことが予想されるが、人での安全性をさらに確認する必要がある。また、従来の担体使用との比較において BMP 使用量の減量化が可能であると考えるが、

\* Minori KATO et al, 大阪市立総合医療センター, 整形外科

\*\* Kunio TAKAOKA et al, 大阪市立大学大学院医学系研究科, 整形外科