

虚血性骨壊死マウスモデルを用いた骨壊死修復過程における年齢の影響の検討

山口亮介、山本典子、田中秀直、本村悟朗、宇都宮健、綾部裕介、坂本幸成、中島康晴
(九州大学整形外科)

成人特発性大腿骨頭壊死症では骨壊死部の修復は限定的であるのに対して、小児特発性大腿骨頭壊死症であるペルテス病では骨壊死部は数年の経過で完全に修復される。すなわち、骨壊死修復過程において年齢は重要な影響因子と考えられるが、それを検証する動物モデルに乏しかった。今回、マウスにおいて外科的に大腿骨遠位部に虚血性骨壊死を誘導するモデルを応用し、各年齢層でどのように骨壊死修復過程が異なるのかを検討した。

1. 研究目的

大腿骨頭壊死症に対する骨壊死修復能は年齢によって大きく異なることが知られている。成人の特発性大腿骨頭壊死症では骨壊死部はほとんど修復されず、壊死境界部での骨頭圧潰を契機に関節症性変化が進行していくが、小児の特発性大腿骨頭壊死症であるペルテス病では、骨頭圧潰が生じても数年の経過で骨壊死部は完全に修復される。これまでに骨壊死動物モデルとして、家兔、仔豚、マウス、ラットなどが報告されているが、骨壊死修復過程における年齢の影響を検討した報告はない。

本研究の目的は、虚血性骨壊死マウスモデルを用いて骨壊死修復過程における年齢の影響を検討することである。

2. 研究方法

外科的に大腿骨遠位を栄養する主要4血管を焼灼して作成する虚血性骨壊死マウスモデルを用いた(1)。マウスの年齢群として、5週齢(若年期)、12週齢(青年期)、22週齢(成人期)、52週齢(中年期)の4群を設定した。右膝に外科的虚血を誘導し、2日後あるいは4週後に犠牲死として左膝をコントロールとして病理学的評価を行った。

3. 研究結果

虚血誘導後2日目に犠牲死としたマウスで評価したTUNEL染色では、4群ともに骨髄および骨細胞が広

範に染色され、いずれの群においても同様に虚血が誘導されていることが確認できた。

虚血誘導から4週後のHematoxylin-Eosin(HE)染色による壊死領域と血管新生領域の分布評価では、5週齢では70%以上の領域が新生造血骨髄に置換され、遺残壊死領域が10%以下であったのに対して、高週齢になるほど新生造血骨髄領域の割合が低下し、遺残壊死領域の割合が増加していた。52週齢では新生造血骨髄領域は20%以下で、遺残壊死領域は70%以上であった。5週齢と12週齢間、12週齢と22週齢間ではそれぞれ有意な差が認められた。

虚血誘導から4週後のHE染色では5週齢の壊死側では骨梁の長さに対する骨芽細胞数が他の週齢よりも有意に多かった。この骨芽細胞数は5週齢では壊死側がコントロール側よりも有意に多かったが、他の週齢ではコントロール側の方が有意に多かった。また蛍光二重染色による骨形成マーカー(Mineral apposition rate および Bone formation rate)は5週齢の壊死側が有意に多く、若年群で骨形成能が高いという結果であった。

TRAP染色による破骨細胞評価では、骨芽細胞数と同様に5週齢の壊死側が他週齢やコントロール側よりも有意に高く、他の週齢では壊死側よりもコントロール側が有意に高かった。このことから5週齢の若年群では骨形成、骨修復ともに骨代謝が亢進していることが示唆された。

4. 考察

成熟マウスと比較して未成熟マウスでは虚血性骨壊死誘導後、速やかに血管新生と骨修復が生じ、成人期以降のマウスでは骨修復がほとんど見られない状態であった。このことはヒトの特発性大腿骨頭壊死症やペルテス病において認められる臨床的知見と類似した結果であった。このことから虚血性骨壊死マウスモデルを用いて年齢の影響を検討する本手法は、成人特発性大腿骨頭壊死症で骨修復が限定的であるメカニズムの検討や、骨壊死修復に対する新しい治療介入の評価に有用であると考えられた。

5. 結論

未成熟マウスでは虚血性骨壊死誘導後速やかに骨壊死修復が生じていた。骨壊死修復過程における年齢の影響を検討する際に本手法が有用であると考えられる。

6. 研究発表

1. 論文発表

Yamaguchi R, Kamiya N, Kuroyanagi G, Ren Y, Kim HKW. Development of a murine model of ischemic osteonecrosis to study the effects of aging on bone repair. J Orthop Res. 2021 Dec;39(12):2663-2670.

2. 学会発表

- 1) Yamaguchi R, Kamiya N, Kuroyanagi G, Ren Yinshi, Harry KW KM. The effect of aging on bone repair against ischemic osteonecrosis in a mouse model. ARCO2022, Korea, Aug 26, 2022

7. 知的所有権の取得状況

1. 特許の取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

8. 参考文献

- 1) Kamiya N, Yamaguchi R, Aruwajoye O, Adapala NS, Kim HK. Development of a mouse model of