

骨折治癒のしくみ：骨の再生能力

神宮寺， 誠也
九州大学大学院医学研究院整形外科学分野

<https://doi.org/10.15017/7183625>

出版情報：福岡醫學雑誌. 93 (7), pp.116-120, 2002-07-25. Fukuoka Medical Association
バージョン：
権利関係：



解 説

骨折治癒のしくみ —— 骨の再生能力 ——

九州大学大学院医学研究院整形外科学分野
神 宮 司 誠 也

1. はじめに

骨は生きた器官のひとつである。ほとんどがミネラルと基質から成っているが、血行を持ち、骨芽細胞、骨細胞や破骨細胞が存在する、実はダイナミックな器官である。ゆっくりとした turn over であるが、リモデリングにより常に新陳代謝を行っている。この骨が最もダイナミックに反応するのは、それが損傷を受けた時、即ち骨折治癒過程においてである。体内の多くの器官は、損傷を受けると瘢痕組織にて治癒する。傷ついた皮膚が治癒したあとには傷痕が残る。胃潰瘍も瘢痕組織にて治癒する。ところが、骨は本来の構造と形を回復する、再生能力が旺盛な器官である。

動物にてある一定の骨折をおこすと、その治癒過程は非常に再現性よく起こってくる(図1)。骨折後何日でどこにどのような組織像が観察されるかということに個体差がないことがわかる。実によく制御されている。しかしながら、最近に至るまで、この制御メカニズムがほとんど明らかにされていなかった。1980年代後半から分子生物学的実験手法がめざましく発達し、骨折治癒の研究においてもそれが応用され、細胞レベルでの解析が進んできた。前述したように良く制御された骨折治癒のメカニズムについて、特に成長因子を中心とする細胞レベルでの理解が深まってきたと思われる¹⁾。ここでは、近年明らかになってきた細胞レベルでの骨折治癒の制御メカニズムについて述べたい。そして、これらの研究を基本にして発展してきた、新たな骨折治療の方法についても紹介したい。

2. 細胞レベルでの骨折治癒過程のしくみ²⁾

骨折治癒過程では、血腫形成、炎症反応、骨膜性骨化、軟骨形成、内軟骨性骨化、骨改変といった様々な細胞反応が同時に、又連続的に観察される。骨折部には仮骨という一時的に形成される組織が現れてくる。骨折後の時期により異なるが、仮骨は主に、骨組織や軟骨組織により成る。言い方を換えれば、骨折治癒過程では、骨折部において骨組織や軟骨組織が新たに形成されるということである。即ち、それらを構成する細胞が増殖し、さらに分化し様々な基質蛋白を産生分泌していくということに他ならない。骨折仮骨内で起こっている細胞増殖を検討することや、細胞の基質蛋白産生について調べることで骨折治癒過程における制御メカニズムを理解する第一歩となると思われる。以後、主にラット大腿骨骨折をモデルとして説明したい。時間のスケールは異なるが、ヒトの骨折でもほぼ同じことが起こっているものと思われる。

①骨折治癒における細胞増殖(図2)¹⁾

骨折後36時間では骨折部付近や及び骨折部近傍に細胞増殖が多く認められる。骨折後3日目までは骨折部を中心に広く増殖期細胞が認められるが、7日目になって骨組織や軟骨組織が次第に形成されてくると、仮骨表層のみに細胞増殖が限られ、その程度も骨折直後と比べ約半分程度となる。骨折後2週間頃から、新生骨梁組織と軟骨組織の境界にて、軟骨が骨に置き換わる、いわゆる内軟骨性骨化が始まると、同部に

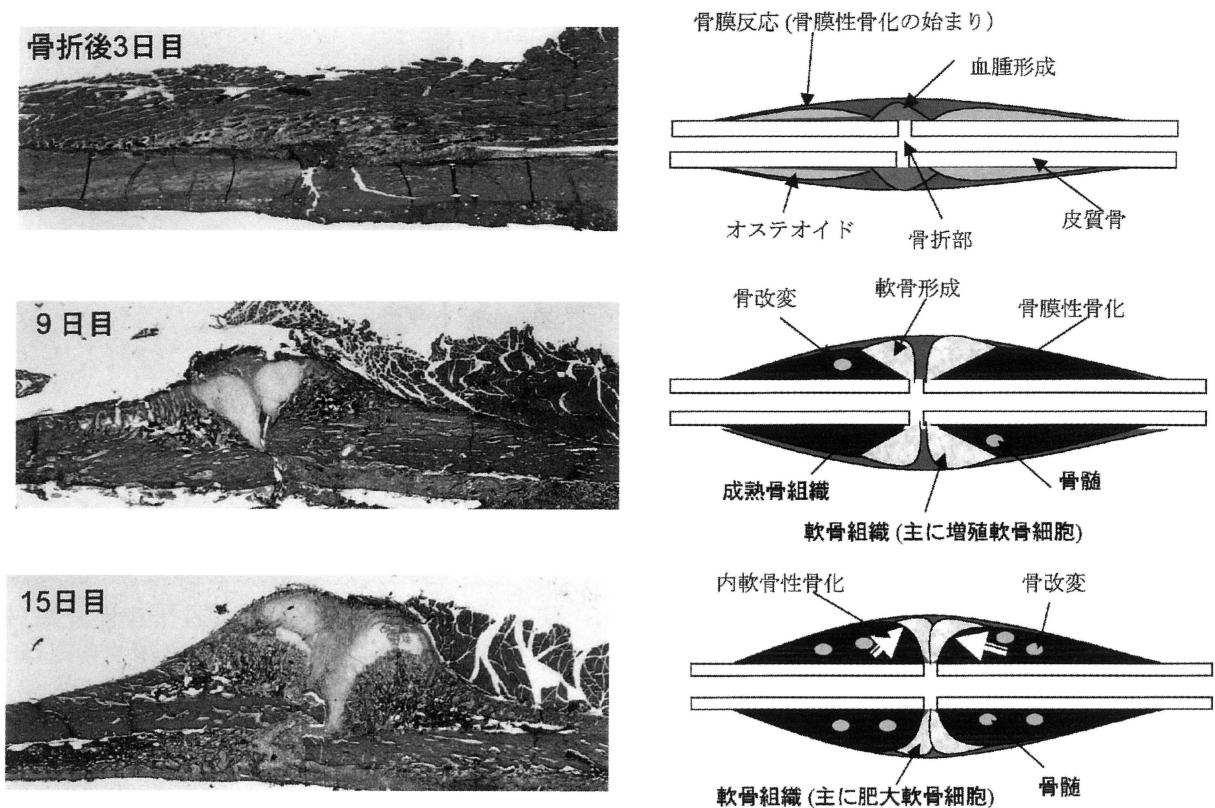


図1 骨折治癒過程における細胞反応 (ラット大腿骨骨折モデル) (文献3より一部引用)

新たな細胞増殖が始まる。即ち、骨折治癒過程が進んでいくにつれ、細胞増殖の認められる部位と、その程度は変わっていくことがわかる。骨折部に形成されていく仮骨の中で、異なる部位で異なるタイミングにて細胞増殖が制御されている。細胞増殖をつかさどるなんらかの局所性制御因子が活躍していることを示している。

②骨折治癒における細胞分化 (図3)³⁾

細胞増殖に引き続いて細胞分化が起こり、骨組織や軟骨組織が形成されてくる。分化の段階により、産生される基質蛋白は異なり、その変化をたどることで細胞の分化について検討することができる。仮骨を骨形成の認められる硬性仮骨と軟骨形成の認められる軟性仮骨に分け、それぞれの仮骨内における総RNAを抽出した後、基質蛋白に特異的な messenger RNA を検出することで仮骨内における細胞分化の経過が検討されている。硬性仮骨ではI型コラーゲン、オステオネクチン、アルカリフォスファターゼなどが産生されており、骨膜性骨化と内軟骨性骨化の時期に一致して、二つのピークが認められる。一方、軟性仮骨では早い時期にはII型コラーゲンやプロテオグリカンの産生が認められ、軟骨細胞の最終分化に伴い、アルカリフォスファターゼやI型コラーゲンが産生されるようになってくる。硬性仮骨と軟性仮骨では基質蛋白産生の変化の時期も異なり、別々に分化が進んでいることがわかる。局所性制御因子の存在を示すもうひとつの事実である。

3. 骨折治癒過程における成長因子の役割

成長因子とは、生体の中で細胞が産生し、細胞増殖や分化を、主に局所で制御している分子量数万の小さな蛋白である。細胞同士がお互いにコミュニケーションをとって組織を形成していくときに使われている言葉のようなものであり、骨形成や軟骨形成の制御にも関与していることが示されている。骨折治癒過程において成長因子は主に2つのパターンにて関わっている。①まず、骨折直後、血腫形成時に血小板から放出される場合。②骨折治癒過程に出現する細胞が局所で産生し、自分の細胞や近傍の細胞に働く場合

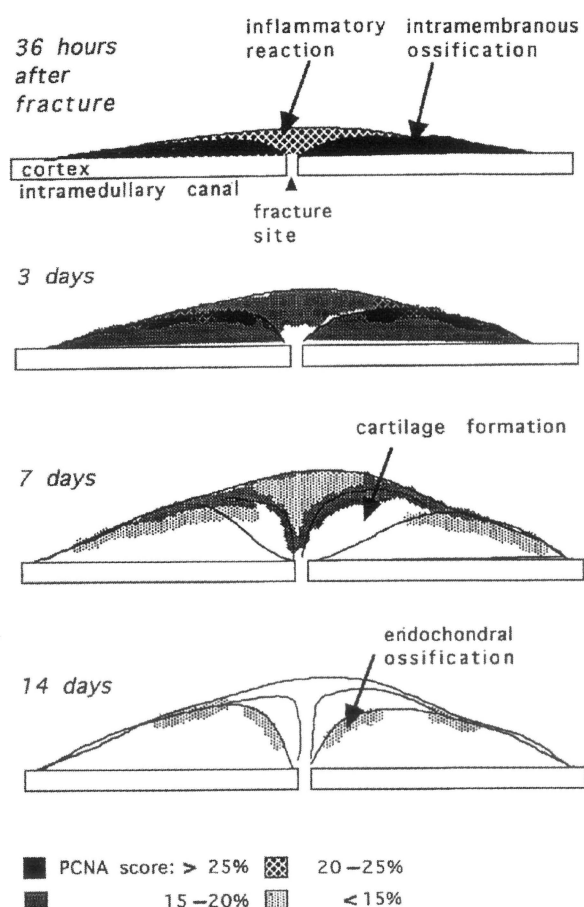
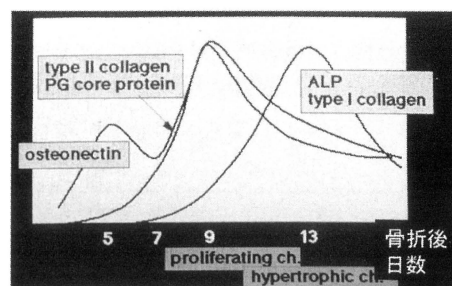


図2 仮骨内の増殖期細胞の量と分布。骨折後36時間後、3日目、7日目、14日目の仮骨内における増殖期細胞の分布を示している。より濃い部分程、増殖期細胞の割合が高いことを表している。骨折後早い時期では骨折全体に多くの増殖期細胞が存在している。次第に表層に限られてくるが、14日目では内軟骨性骨化の部位に新たな細胞増殖が観察される（文献2より引用）。

軟性仮骨



硬性仮骨

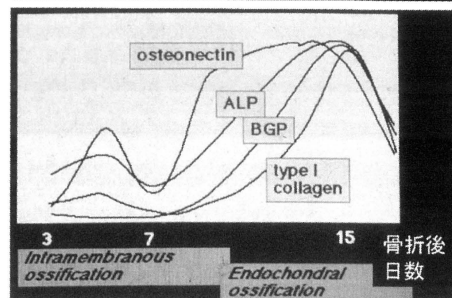


図3 軟性仮骨（主に軟骨組織）と硬性仮骨（骨組織）における基質蛋白に対する遺伝子発現の経過。縦軸は相対的遺伝子発現量を、横軸は骨折後日数を示す。軟性仮骨ではII型コラーゲン (type II collagen)、プロテオグリカン (proteoglycan core protein) の発現量は骨折後9日目でピークとなり、13日目になると代わってアルカリフォスファターゼ (ALP) やI型コラーゲン (type I collagen) の発現量がピークとなっていた。各々、軟骨組織中の細胞は、9日目では増殖軟骨細胞 (proliferating chondrocytes)、13日目では肥大軟骨細胞 (hypertrophic chondrocytes) が多く、遺伝子発現量の変化は軟骨細胞の分化が進んでいることを示している。硬性仮骨では二つのピークがあり、早いピークは骨膜性骨化 (intramembranous ossification) と、遅いピークは内軟骨性骨化 (endochondral ossification) と一致していた（文献3から引用）。

(オートクライン、パラクライン) である。今までに transforming growth factor beta ($TGF\beta$)⁴⁾, fibroblast growth factors (FGFs), platelet derived growth factor (PDGF), bone morphogenetic protein-4 (BMP-4), insulin-like growth factor-I (IGF-I), activin-A 等が骨折仮骨において発現することが報告されている。

①血腫形成、炎症反応

骨折直後の血腫は骨折部から近傍の骨膜上に広がり、骨折部に近いところでは骨折後10日目くらいまで認められる。同部に $TGF\beta$ が存在する。 $TGF\beta$ は血腫形成時に血小板から放出されることが知られている。骨折直後の血腫に一致して $TGF\beta$ が広く骨折周辺に散布されることになる。骨折をおこしていない骨膜下にこの成長因子を投与すると、骨組織や軟骨組織を含む仮骨と類似の組織が形成される。血小板から放出された $TGF\beta$ が骨折治癒過程の“引き金”になっていることが考えられる。PDGF も同様に血小板から放出されることが知られており、骨折直後の骨折部において同様な役割をはたしていると思われる。

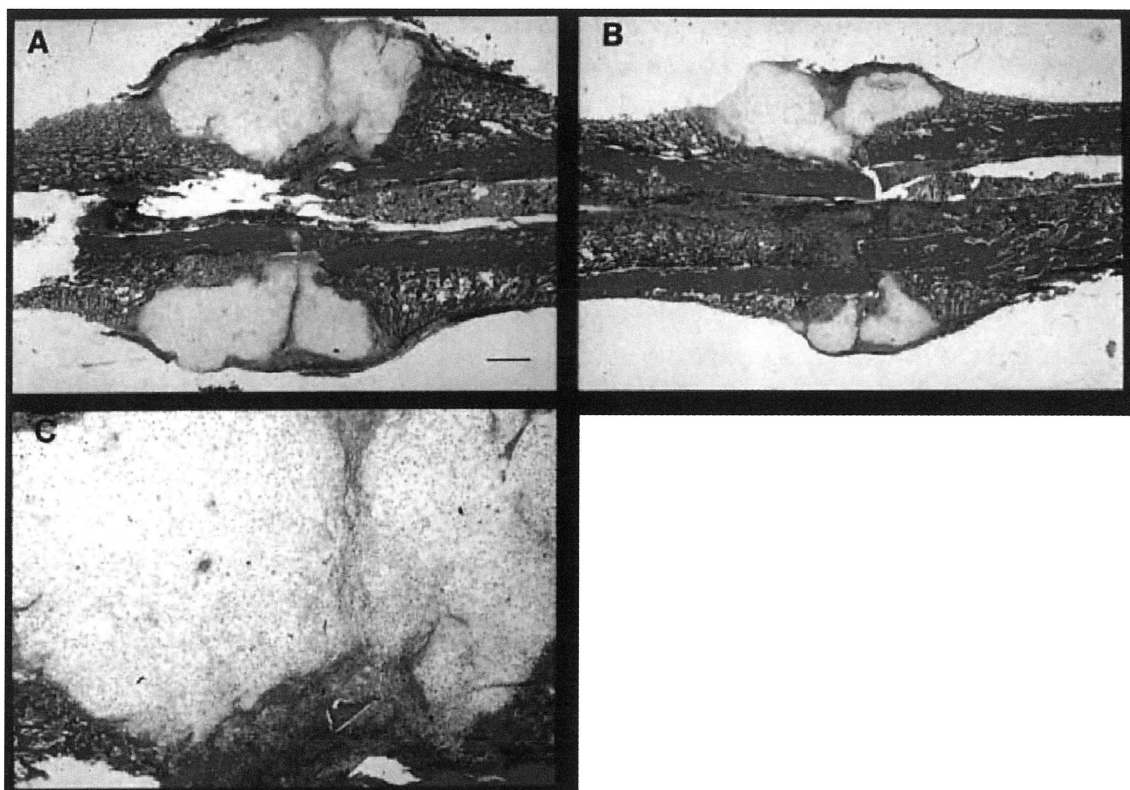


図4 成長因子投与実験. Acidic fibroblast growth factor を骨折部に投与するとコントロール (B) に比べて仮骨の軟骨組織が増大した (A). 拡大像 (C) では比較的小さなサイズの軟骨細胞によって占められていた. 投与を中止すると内軟骨性骨化により大きな骨組織へと置換された (文献5から引用).

②骨膜性骨化

骨折後1日目くらいより, 骨折部両脇に骨膜細胞の増殖反応が見られる. 前述したように, 骨折直後の血腫から放出された $TGF\beta$ や $PDGF$ が刺激しているものと考えられる. これが骨膜性骨化の始まりである. 骨膜細胞自身も $BMP-4$ や $TGF\beta$ を発現する. 骨折後2-3日後には骨折部近傍にまだ石灰化していない新生骨梁組織 (オステオイド) が観察され始める. 骨膜細胞は骨芽細胞へと分化し $BMP-4$ や $TGF\beta$ に加えて $IGF-I$, $activin A$ も発現するようになる. この時期の骨芽細胞は分化途中であり, これらの成長因子はこの未熟骨芽細胞の細胞増殖や初期の細胞分化に関わっていると思われる. 骨折後9日目頃になると骨膜性骨化が進行し, 厚く成長した骨梁組織内にはオステオカルシンを発現するような成熟骨芽細胞が多く存在する. これらの細胞は $TGF\beta$, $basic FGF$, $activin A$ を発現している.

③軟骨形成と内軟骨性骨化

骨折後数日では, 骨折部の未分化間葉系組織に $FGFs$ を発現する細胞が現れる. $FGFs$ を骨折部に投与すると軟骨組織が増大することが報告されており²⁾, 局所で分泌された $FGFs$ は軟骨前駆細胞の増殖や分化を促していることが考えられる.

骨折後9日目頃になると, 軟性仮骨のほとんどが増殖軟骨細胞にて占められるようになり, これらの軟骨細胞は $basic FGF$, $TGF\beta$, $IGF-I$, $activin A$ を発現し, 同細胞の増殖や分化に関与していると考えられる. さらに分化が進み, 肥大軟骨細胞になるとそれらの成長因子産生は認められなくなる. 肥大軟骨細胞周囲の基質に $TGF\beta$ が存在しており, 同部に始まる内軟骨性骨化の開始に関わっていると思われる.

このように, 同じ部位でも骨折後の時期により発現される成長因子が変化し, 又同じ時期でも仮骨の中の部位により異なった成長因子が発現されている. まだ, 明らかになっていない成長因子があることも考えられる. 多くの場合, 複数の成長因子が同時にある細胞群の細胞増殖の制御や分化の制御に関わっているものと思われる. 炎症反応, 骨膜性骨化, 軟骨形成, 内軟骨性骨化のそれぞれの時期により, 異なる一

群の成長因子が細胞増殖や分化を制御しているようである。成長因子によっては、直接に作用する細胞表面のレセプターの発現までわかっているものもある。個々の成長因子の役割は細胞内の反応についての研究が進んで、今後明らかになってくると思われる。

4. 成長因子投与による骨折治癒過程への影響及び臨床応用の可能性

では、これらの成長因子がどれくらい骨折治癒過程における骨形成や軟骨形成に関わっているのか。それを明らかにするひとつの方法は、成長因子を外から投与して骨折治癒過程がどのように変化するのか検討してみることである。1990年にacidic FGF投与の骨折治癒過程への効果が試されており(図4)、これが生体における最初の成長因子投与の報告であった²⁾。以来、いくつかの成長因子が生体内における骨折に試されている。これらの実験は成長因子の臨床応用について検討する実験でもある。現在、国内においてもいくつかの成長因子について骨折治療を目的とした臨床治験が始まっている。成長因子応用について注意すべきことは骨折治癒過程そのものが、内在性の成長因子により制御されているということである。即ち、ある成長因子が軟骨形成や骨形成に関わっているというだけでやみくもに投与しても、期待される結果にならないことも考えられる。遷延癒合や偽関節に対してもしくは正常な骨折治癒が期待できにくい場合に、成長因子の投与を考慮すべきであると考えられる。成長因子投与による骨折治療は、従来の治療方法と比べて侵襲が少なく且つ確実な方法となる可能性がある。骨形成や軟骨形成に関わる成長因子の臨床応用としては再生医療の分野も期待される。骨腫瘍摘出後や人工関節再置換術時の骨欠損に対して、よりよい解決策を生む可能性があるし、変形性関節症や離断性軟骨骨炎などの軟骨欠損に対して、軟骨再生を促したり、細胞移植を効率的に行ったりする際に有用な場合があると考えられる。さらに、より積極的に生体内に骨組織や軟骨組織を誘導することで臨床的に意義のある場合も考えられる。これらの成長因子を応用する際には、骨軟骨代謝における成長因子の役割、特に骨折治癒過程における成長因子の役割を理解しておくことが大切である。

5. 終わりに

成長因子のほかにも、低出力超音波パルス⁹⁾という、細胞レベルでメカニカルな刺激を与え骨折治癒を促進する手段も開発され、すでに臨床にて使われている。骨は、それ自身でダイナミックな治癒能力を持つ器官であるが、さらにその治癒力を増やすような治療方法が開発され、骨折治療は新しい時代へ入ろうとしている。

文 献

- 1) Iwaki A, Jingushi S, Oda Y, Izumi T, Shida J, Tsuneyoshi M and Sugioka Y: Localization and Quantification of Proliferating Cells during Rat Fracture Repair -Detection of Proliferating Cell Nuclear Antigen by Immunohistochemistry. J Bone Miner Res 12 (1): 96-102, 1997.
- 2) Jingushi S, Heydemann A, Kana SM, Macey LR and Bolander ME: Acidic fibroblast growth factor injection stimulates cartilage enlargement and inhibits cartilage gene expression in rat fracture healing. J Orthop Res 8 (3): 364-371, 1990.
- 3) Jingushi S, Joyce ME and Bolander ME: Genetic expression of extracellular matrix proteins correlates with histologic changes during fracture repair. J Bone Miner Res 7 (9): 1045-1055, 1992.
- 4) 神宮司誠也: 骨折治癒過程における TGFβ の発現と役割. 実験医学 10 (15): 72-77, 1992.
- 5) 神宮司誠也: 骨折治癒に関する最近の動向, 水野耕作, 糸満盛憲編「骨折治療学」p 61-69, 南江堂, 2000.
- 6) 神宮司誠也: 低出力超音波パルスによる骨折治療の基礎と臨床. 整形外科 51(11): 1471-77, 2000.