

## 審査の結果の要旨

柏木 美樹

本研究は、骨発生において軟骨内骨化の重要なシグナルとして知られるヘッジホッグ (Hh) に着目し、Hh 作動薬である低分子化合物 Smoothened agonist (SAG) を骨折治癒に応用したものである。マウス左側脛骨骨折モデルの患部に SAG を局所的に単回投与し、骨折治癒過程の仮骨形成に関して、下記の結果を得ている。

1. 術後 14 日目の 3D- $\mu$ CT による解析において、SAG 投与群の仮骨サイズは Vehicle 投与群と比較して有意に増加していた。また、仮骨全体・骨密度が高い領域の仮骨・骨密度が低い領域の仮骨のすべてにおいて、SAG 投与群で骨量および骨塩量の有意な増加が認められた。さらに、仮骨全体・骨密度が高い領域の仮骨の骨密度においても、SAG 投与群で有意な増加が確認された。
2. 術後 14 日目の軟性仮骨の組織学的解析において、SAG 投与群における軟骨組織の増大が確認された。SAG の作用により、仮骨中の軟骨組織の形成が促進されることが示唆された。
3. 術後 14 日目の軟性仮骨中の肥大軟骨細胞等の細胞構成に明らかな差は認められなかった。また、軟性仮骨領域の細胞密度の計測においても、両群間で有意な差は認められなかった。したがって、SAG 投与において、異常な軟性仮骨の形成は生じないと考えられた。
4. 術後 14 日目の軟性仮骨において、SAG 投与群では Vehicle 投与群と比較して、有意な細胞増殖の促進が確認された。また、SOX9 陽性細胞 (軟骨細胞) の増加も認められた。SAG 投与により、細胞増殖が促進され、軟骨細胞が増加し、軟性仮骨の形成が促進される可能性が示唆された。
5. 術後 14 日目の硬性仮骨の組織学的解析を行った結果、新生骨量の有意な増加が認められた。3D- $\mu$ CT の定量的データと合わせ、SAG 投与により新生骨が増加する可能性が示唆された。
6. 術後 14 日目の硬性仮骨において、Vehicle 投与群と比較して、SAG 投与群で SP7 陽性細胞 (骨芽細胞) の有意な増加が認められた。SAG 投与により、骨芽細胞数が増加し、骨量の増加へとつながった可能性が示唆された。

以上、本論文はマウス脛骨骨折モデルにおいて、Hh 作動薬である SAG の骨折治癒への影響について明らかにした。SAG は、骨折治癒過程において、軟性仮骨および硬性仮骨の形成促進に寄与していることが明らかとなった。また、軟骨細胞の増殖や骨芽細胞への分化促進に対して積極的に作用することが示唆された。本論文は、低分子化合物を用いて、外

因性に **Hh** シグナルを刺激することによる仮骨形成期の治癒促進の可能性を示唆しており、難治性骨折などの骨関連疾患の治療のひとつになると期待され、学位の授与に値するものと考えられる。