

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 5 月 5 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10966

研究課題名(和文) 骨折治癒に不利な条件下における、炭酸ガス経皮吸収の骨折治癒促進効果の検討

研究課題名(英文) Transcutaneous carbon dioxide Application Accelerates Bone Fracture Healing in Diabetic Rats

研究代表者

岩倉 崇 (Iwakura, Takashi)

神戸大学・医学研究科・医学研究員

研究者番号：60437473

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：1型糖尿病誘発ラットの大腿骨に閉鎖性横骨折を作成、骨折肢に炭酸ガスを経皮吸収させる群とさせない群(炭酸ガス群、対照群)の2群間で、骨折治癒過程を比較検討した。骨癒合率は炭酸ガス群で有意に高く、組織学的には軟骨細胞の増殖と軟骨形成、軟骨内骨化と血管新生が炭酸ガス群で有意に促進していた。炭酸ガス群で軟骨形成、骨芽細胞分化、血管新生、血管拡張に関する遺伝子発現が有意に増加していた。機械的強度は炭酸ガス群で有意に高値であった。炭酸ガス経皮吸収が、糖尿病で阻害される軟骨細胞の増殖と軟骨形成、軟骨内骨化、血管新生、骨形成を改善させた結果、骨折治癒が促進された可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

1型糖尿病ラット骨折モデルにおいて、炭酸ガス経皮吸収により軟骨細胞の増殖、軟骨形成、軟骨内骨化、血管新生、骨形成が促進した結果、骨折治癒過程も促進されており、骨折治癒に不利な糖尿病の条件下でも、炭酸ガス経皮吸収は有効であることが示された。糖尿病患者は骨折後の骨癒合不全の発生頻度が高く、しばしば治療が長期化する。治療の長期化はADLの低下、合併症の併発、医療費の増加など必要以上の負担を患者に強いる可能性が高い。本研究で、炭酸ガス経皮吸収は1型糖尿病に起因する難治性骨折治療における、非侵襲的なサポートツールになり得ることが示された。この研究成果は学術的にも社会的にも非常に有意義であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We created a closed transverse femoral fracture of type I diabetic rat and compared the fracture healing process between two groups (CO₂ group: rats received transcutaneous carbon dioxide application / Control group: rats received sham treatment). The fracture union rates and mechanical strength were significantly higher in the CO₂ group. Histologically, chondrocyte proliferation, cartilage formation, endochondral ossification, and capillary formation were significantly accelerated in the CO₂ group. The gene expression levels of Collagen and Runx2 and osterix, VEGF, and eNOS were significantly increased in the CO₂ group. Our study suggested that chondrocyte proliferation, cartilage formation, endochondral ossification, bone formation, and mechanical properties, which are reported to be inhibited to cause delayed fracture healing in diabetes, may be improved by the transcutaneous carbon dioxide application, and consequently promoted fracture healing.

研究分野：整形外科

キーワード：難治性骨折 1型糖尿病 炭酸ガス経皮吸収療法 軟骨内骨化 血管新生 軟骨形成

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

糖尿病や骨粗鬆症は骨折治癒に負の影響を与える因子として知られるが、骨折治療において、早期かつ確実な骨折癒合の達成は究極の目標である。我々はこれまでに、新開発の炭酸ガス経皮吸収システムを用いると、生体内で Bohr 効果が生じて局所組織内での酸素化が促進され、さらに局所への血流が増強することを報告した。また、動物実験(ラット大腿骨骨折モデル)の結果、炭酸ガス経皮吸収によって骨折局所での血流増強、血管新生を認め、骨折治癒が促進されることを報告した。

2. 研究の目的

今回我々は、糖尿病や骨粗鬆症という骨折治癒に不利な条件下において、炭酸ガス経皮吸収が骨折治癒を促進させるかどうかを検討することを目的とした。

3. 研究の方法

12週齢、雌の Streptozotocin 誘発 1型糖尿病ラットの大腿骨に径 1.25mm のキルシュナー鋼線を刺入し、三点支持台上で重錘を落下させ閉鎖性大腿骨横骨折モデルを作成する。炭酸ガスを週 5 回投与する炭酸ガス群(炭酸ガス経皮吸収群)と、control 群(炭酸ガス非吸収群)の 2 群に分け、炭酸ガス群には、骨折肢に炭酸ガス経皮吸収促進ゲルを塗布し、袋で密閉して 1 日 1 回 20 分間 100%炭酸ガスを経皮吸収させた。一方、control 群には、同ゲルを骨折肢に塗布するのみとした。

骨折後 1,2,3,4 週で単純 X 線像を用いた骨癒合評価、組織学的評価、real time PCR を用いた遺伝子学的評価を、骨折後 4 週の時点で三点曲げ試験による骨強度評価を行った。

4. 研究成果

骨癒合率は CO₂群で有意に高く、組織学的には軟骨細胞の増殖と軟骨形成、軟骨内骨化と血管新生が CO₂群で有意に促進していた。Collagen、Runx2、osterix、VFGF、eNOS の遺伝子発現量は CO₂群で有意に増加しており、軟骨形成、骨芽細胞分化、血管新生、血管拡張が促進したことが示唆された。機械的強度は CO₂群で有意に高値であった。

炭酸ガス経皮吸収が、糖尿病で阻害される軟骨細胞の増殖と軟骨形成、軟骨内骨化、血管新

生、骨形成を改善させた結果、骨折治癒が促進された可能性が示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Takahiro Oda, Takahiro Niiikura, Takashi Iwakura, Keisuke Oe, Tomoaki Fukui, Yu Kuroiwa, Yohei Kumabe, Kenichi Sawauchi, Yoshitada Sakai, Ryosuke Kuroda
2. 発表標題 Transcutaneous CO2 Application Accelerates Bone Fracture Healing in Streptozotocin-Diabetic Rats
3. 学会等名 Orthopaedic Research Society 2019 Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takahiro Oda, Takahiro Niiikura, Takashi Iwakura, Keisuke Oe, Tomoaki Fukui, Yu Kuroiwa, Yohei Kumabe, Kenichi Sawauchi, Yoshitada Sakai, Ryosuke Kuroda
2. 発表標題 Transcutaneous CO2 Application Accelerates Bone Fracture Healing in Diabetic Rats
3. 学会等名 4th AO Trauma Asia Pacific Scientific Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小田崇弘, 新倉隆宏, 岩倉崇, 福井友章, 大江啓介, 新倉路生, 黒岩祐, 隈部洋平, 澤内健一, 酒井良忠, 黒田良祐
2. 発表標題 炭酸ガス経皮吸収は1型糖尿病ラット骨折モデルにおいて骨癒合を促進させる
3. 学会等名 第34回日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小田崇弘, 新倉隆宏, 岩倉崇, 福井友章, 大江啓介, 隈部洋平, 澤内健一, 吉川遼, 酒井良忠, 黒田良祐
2. 発表標題 炭酸ガス経皮吸収は1型糖尿病ラット骨折モデルにおける骨折治癒を促進させる
3. 学会等名 第35回日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	新倉 隆宏 (Niikira Takahiro) (40448171)	神戸大学・医学研究科・准教授 (14501)	
研究分担者	李 相亮 (Sangyang Lee) (40533732)	昭和大学・医学部・講師 (32622)	
研究分担者	福井 友章 (Tomoaki Fukui) (50437688)	神戸大学・医学部附属病院・特定助教 (14501)	
研究分担者	大江 啓介 (Keisuke Oe) (20514623)	神戸大学・医学部附属病院・助教 (14501)	