

令和 元年 6 月 12 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16694

研究課題名(和文)多血小板血漿が骨延長術後骨格筋線に及ぼす効果の病態解明

研究課題名(英文)Effect of Platelet-Rich Plasma on Skeletal Muscle Fibrosis after Distraction Osteogenesis.

研究代表者

殿谷 一郎(TONOGAI, Ichiro)

徳島大学・病院・特任講師

研究者番号：30444722

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：骨延長は四肢短縮などの治療として有用である。多血小板血漿(platelet rich plasma; PRP)は多くの成長因子を含み、組織の修復に寄与するといわれているが、延長骨格筋に対する効果を調べた報告はなく、今回マウス骨延長モデルにおける骨間筋線維化に対するPRPの作用を検討したが、マウス骨延長モデルにおける骨間筋線維化に対し、PRP投与は効果がないことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

骨延長術後の骨格筋において、PRP投与により線維化の減少を期待したが、本研究ではPRPを局所注射投与しても線維化が残存していた。PRPは軽度や中等度に筋損傷には効果があるのかもしれないが、骨延長術のような慢性的な伸張ストレスによる高度で特殊な筋損傷後は、PRPのpositiveな効果を凌駕するものなのかもしれないことが示唆された。PRPの効果に関しては様々な報告があるなかで、本研究では骨延長後の骨格筋に対するPRPの効果を明らかにしたことは、学術的ならびに社会的に意義のある研究成果であったといえる。

研究成果の概要(英文)：Skeletal muscle fibrosis caused by an increase in collagen deposition often occurs after distraction osteogenesis. This study focused on determining whether platelet-rich plasma (PRP) reduces skeletal muscle fibrosis caused by distraction osteogenesis. We initially expected that PRP might significantly reduce skeletal muscle fibrosis after distraction osteogenesis. However, our study showed no positive effect on muscle following distraction osteogenesis after treatment with PRP. PRP did not significantly reduce skeletal muscle fibrosis due to distraction osteogenesis.

研究分野：整形外科(とくに足の外科)

キーワード：多血小板血漿

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

骨延長術は四肢短縮・変形などの治療に有用な方法である。しかし、骨延長術のように慢性的な伸張ストレスが加わると、持続する筋損傷に筋修復が追い付かず、しばしば筋線維は委縮し、細胞外マトリックスが高度に残存し、骨格筋に線維化が起こる(文献1)。多血小板血漿(platelet rich plasma; PRP)は血小板を高度に含み、活性化した血小板は様々な成長因子を分泌し、組織修復に寄与する。PRPは臨床的に使用されつつあるが、骨格筋に対する効果はわかっていないため、PRPを延長筋に局所投与することにより、PRPが延長後の骨格筋に及ぼす効果を明らかにする必要があった。

2. 研究の目的

骨延長は四肢短縮などの治療として有用である。PRPはvascular endothelial growth factor (VEGF)、platelet derived growth factor-AB (PDGF)、transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1)など様々な成長因子を含み、組織の修復に寄与するといわれている。PRPの骨延長術後の骨形成促進作用を示した報告はあるが、延長骨格筋に対する効果を調べた報告はなく、今回マウス骨延長モデルにおける骨間筋線維化に対するPRPの作用を検討した。

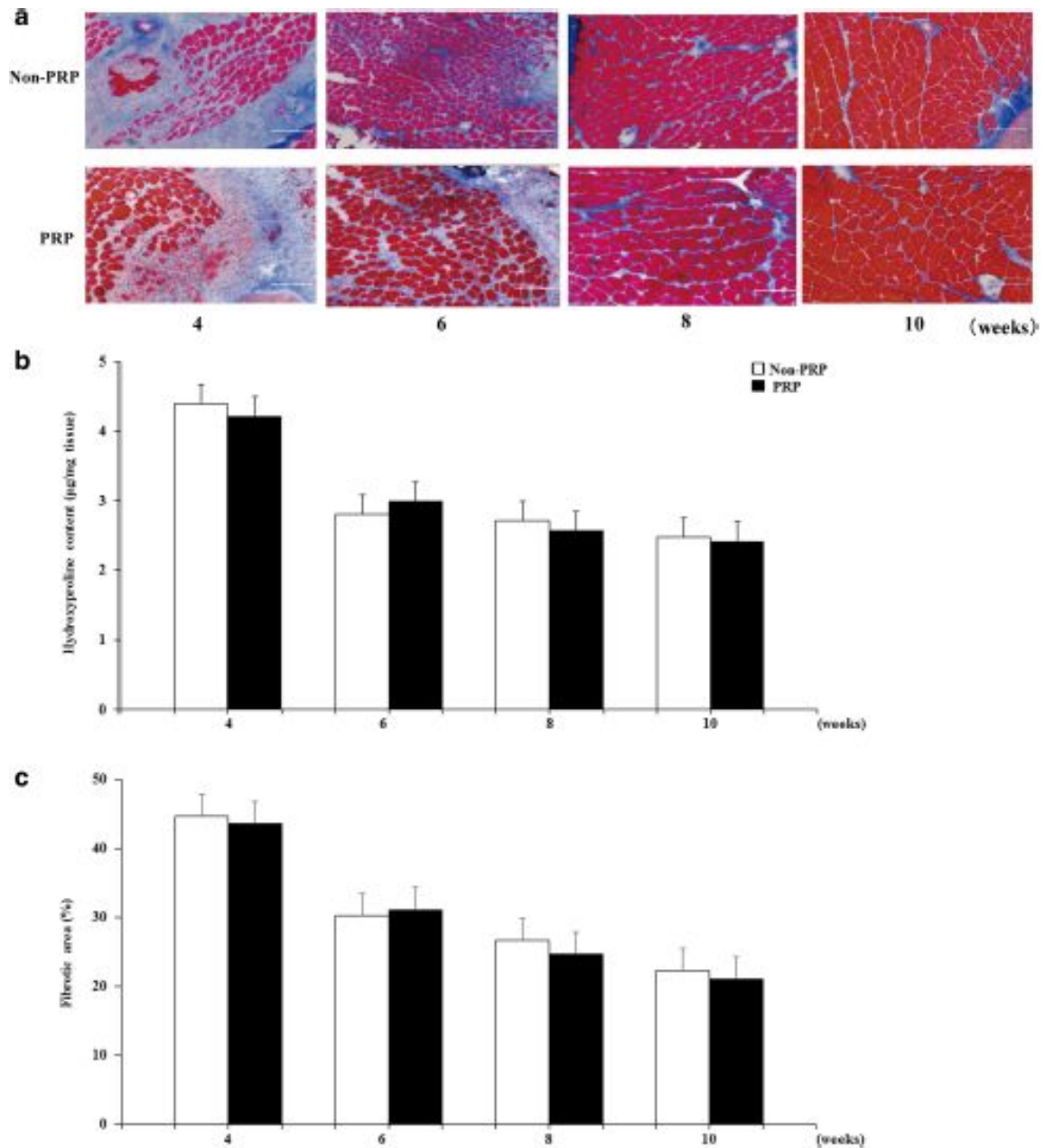
3. 研究の方法

8週齢のwild type雄マウスの下腿に創外固定を装着、脛骨骨切り術を施行し、1週後より0.4 mm/日の速度で2週間骨延長を行った。延長終了直後(術後3週)の時点で、PRP非投与群とPRP投与群にわけ、PRP非投与群ではphosphate buffered saline (PBS)、PRP投与群では延長筋にPRPの局所注射投与を行った。術後4、6、8、10週の各時点でサンプルを採取し、腓腹筋中央部横断切片で線維化をマッソン・トリクローム染色で組織学的に評価し、延長腓腹筋中のヒドロキシプロリン含有量を測定して線維化を定量した。

4. 研究成果

筋湿重量は術後4週ではPRP非投与群平均 0.114 ± 0.002 g、PRP投与群 0.116 ± 0.004 g、術後8週ではPRP非投与群平均 0.160 ± 0.009 g、PRP投与群 0.161 ± 0.006 g、術後10週ではPRP非投与群平均 0.155 ± 0.005 g、PRP投与群 0.151 ± 0.007 gで、いずれの時点でも両群間で有意差はみられなかった。マッソン・トリクローム染色では術後4週ではPRP非投与群、PRP投与群ともに延長骨格筋の線維化は高度であった。術後6週、8週、10週では線維化は軽減したものの、高度に残存していた(図a)。ヒドロキシプロリン含有量は術後4週ではPRP非投与群平均 4.39 ± 0.08 、PRP投与群 4.21 ± 0.07 μ g/mg tissueとともに増加し、術後6週ではPRP非投与群 2.80 ± 0.06 、PRP投与群 3.00 ± 0.05 μ g/mg tissue、術後8週ではPRP非投与群 2.72 ± 0.17 、PRP投与群 2.57 ± 0.09 μ g/mg tissue、術後10週ではPRP非投与群 2.47 ± 0.08 、PRP投与群 2.41 ± 0.09 μ g/mg tissueと軽減したものの、いずれの時点でも両群間で有意差はみられなかった(図b)。筋線維化の面積は術後4週ではPRP非投与群平均 $44.6 \pm 1.5\%$ 、PRP投与群 $43.7 \pm 1.5\%$ とともに増加し、術後6週ではPRP非投与群 $30.3 \pm 0.6\%$ 、PRP投与群 $31.1 \pm 1.4\%$ 、術後8週ではPRP非投与群 $26.6 \pm 1.1\%$ 、PRP投与群 $24.6 \pm 1.2\%$ 、術後10週ではPRP非投与群 $22.3 \pm 1.0\%$ 、PRP投与群 $21.1 \pm 0.8\%$ と軽減したものの、いずれの時点でも両群間で有意差はみられなかった(図c)。延長術後の骨格筋において、PRP投与により線維化の

減少を期待したが、本研究ではPRPを局所注射投与しても線維化が残存していた。PRPは軽度や中等度に筋損傷には効果があるのかもしれないが、骨延長術のような慢性的な伸張ストレスによる高度で特殊な筋損傷後は、PRPのpositiveな効果を凌駕するものなのかもしれないことが示唆された。マウス骨延長モデルにおける骨間筋線維化に対し、PRP投与は効果がないことが示唆されたが、本研究では骨延長後の骨間筋線維化に対するPRPの作用をはじめて明らかにした。



< 引用文献 >

Tonogai I, Takahashi M, Yukata K, Sato R, Nikawa T, Yasui N, Sairyo K. Osteoactivin attenuates skeletal muscle fibrosis after distraction osteogenesis by promoting extracellular matrix degradation/remodeling. *J Pediatr Orthop B*. 2015 Mar;24(2):162-169.

5 . 主な発表論文等
〔雑誌論文〕(計 1 件)

Tonogai I, Hayashi F, Iwame T, Takasago T, Matsuura T, Sairyō K. Platelet-rich plasma does not reduce skeletal muscle fibrosis after distraction osteogenesis. J Exp Orthop. 2018 Jul 13;5(1):26. doi: 10.1186/s40634-018-0143-7. (査読あり)

〔学会発表〕(計 1件)

Effect of Platelet-Rich Plasma on Skeletal Muscle Fibrosis after Distraction Osteogenesis. Tonogai I, Sairyō K. 2019 Orthopaedic Research Society Annual Meeting. Austin, TX. 2019.2.2-2.5.

〔図書〕(計 0件)

なし

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称:なし

発明者:なし

権利者:なし

種類:なし

番号:なし

出願年:なし

国内外の別:なし

取得状況(計 0件)

名称:なし

発明者:なし

権利者:なし

種類:なし

番号:なし

取得年:なし

国内外の別:なし

〔その他〕

ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1)研究分担者

なし

(2)研究協力者

研究協力者氏名:林 二三男

ローマ字氏名:(HAYASHI, fumio)

研究協力者氏名:岩目 敏幸

ローマ字氏名:(IWAME, toshiyuki)

研究協力者氏名:高砂 智哉

ローマ字氏名:(TAKASAGO, tomoya)

研究協力者氏名:松浦 哲也

ローマ字氏名:(MATSUURA, tetsuya)

研究協力者氏名:西良浩一

ローマ字氏名：(SAIRYO, koichi)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。