

令和 4 年 6 月 8 日現在

機関番号：24402

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09604

研究課題名(和文)電子タバコのエアロゾル吸入が骨癒合に及ぼす影響の検証と禁煙の有効性評価

研究課題名(英文) Heated Tobacco Products Impair Cell Viability, Osteoblastic Differentiation, and Bone Fracture-Healing

研究代表者

平川 義弘 (Yoshihiro, Hirakawa)

大阪市立大学・大学院医学研究科・客員研究員

研究者番号：60735976

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)：本研究の目的は加熱式タバコが骨癒合に与える影響を基礎的研究にて明らかにすることである。燃焼式、加熱式タバコでそれぞれタバコ抽出液を作成し、前骨芽細胞に投与し、細胞生存率と骨分化阻害作用を評価した。また、ラットの大腿骨骨切りモデルに対して各抽出液を投与し、4週後に骨組成、仮骨体積と力学強度を測定した。細胞生存率は両群共に時間、濃度依存性に有意に低下した。骨分化モデルでは、両群ともにALP活性が低下した。動物実験では、骨塩量、仮骨体積、また力学強度が両群共に対称群より有意に低下した。本研究結果を踏まえ、骨癒合を必要とする手術に際して、外科医は加熱式タバコの禁煙も勧めるべきである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、近年国内でも爆発的に普及している加熱式タバコが燃焼式タバコと同様に細胞生存率を低下させ、骨分化、骨癒合の阻害をもたらすことが明らかとなった。研究成果は『The Journal of Bone and Joint Surgery』(IF = 5.284)に論文掲載された。本研究結果を踏まえて、骨折治療中や骨癒合を必要とする手術に際しては燃焼式タバコだけではなく加熱式タバコの禁煙も勧めるべきであると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Cigarette smoke extracts (CSEs) were generated from combustible cigarettes (cCSE) and HTPs (hCSE). Preosteoblast (MC3T3-E1) cells were incubated with normal medium, cCSE, or hCSE. The cell viability and osteoblastic differentiation were assessed. A femoral midshaft osteotomy was performed in a rat model; thereafter, saline solution, cCSE, or hCSE was injected intraperitoneally, and bone union was assessed 4 weeks later. Results: MC3T3-E1 cell viability was reduced when treated with either cCSE or hCSE. ALP activity after osteoblastic differentiation of cCSE-treated cells was significantly lower. In vivo assessment revealed that both cCSE and hCSE administration significantly decreased bone mineral content, bone volume, and biomechanical properties 4 weeks after surgery. Conclusions: HTP use impairs cell viability, osteoblastic differentiation, and bone fracture-healing at levels comparable with those associated with combustible cigarette use.

研究分野：運動器

キーワード：骨折 加熱式タバコ 喫煙 骨癒合 ラット 骨分化

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

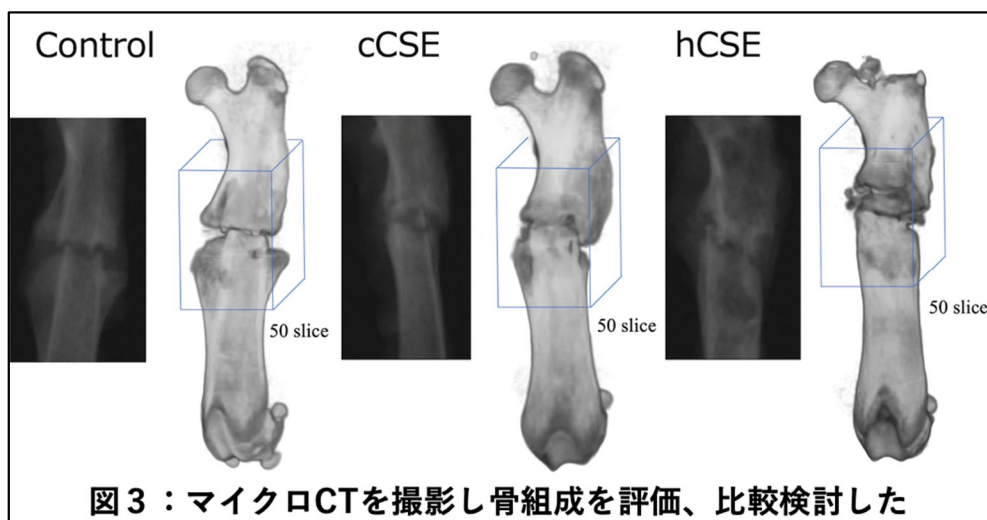
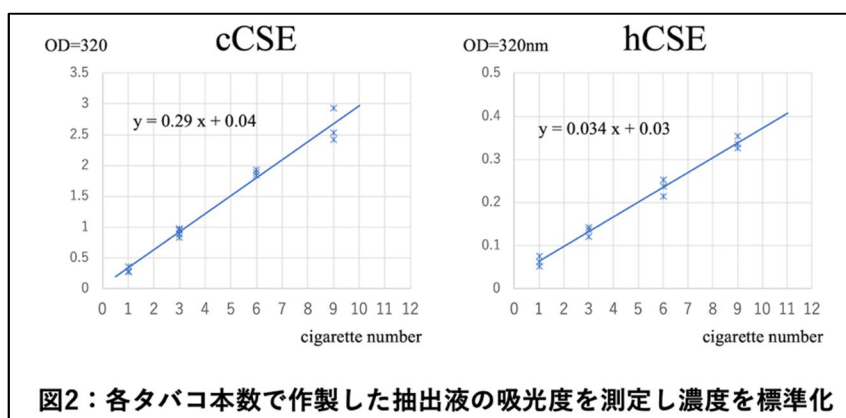
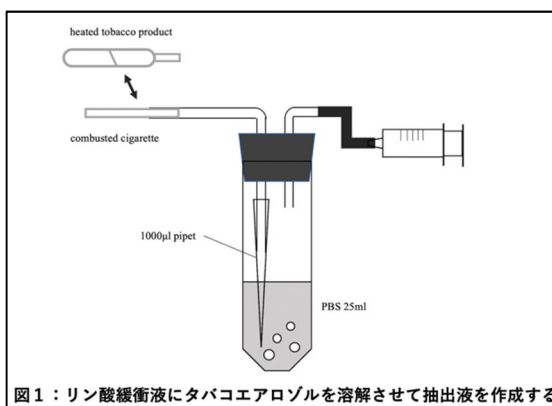
燃烧式タバコの骨癒合への悪影響は周知の事実である。一方で、近年爆発的に使用者が増加している加熱式タバコについては、研究がほとんどされていない。骨癒合を目指す手術の多い整形外科領域において加熱式タバコの影響を調査することは非常に重要な課題である。

2. 研究の目的

本研究の目的は加熱式タバコが細胞毒性、骨分化、骨癒合に与える影響を燃烧式タバコと比較し明らかにすることである。

3. 研究の方法

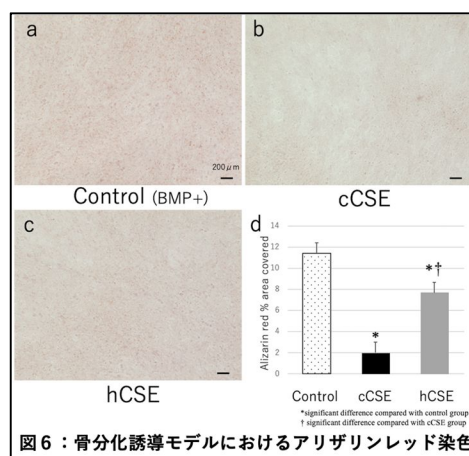
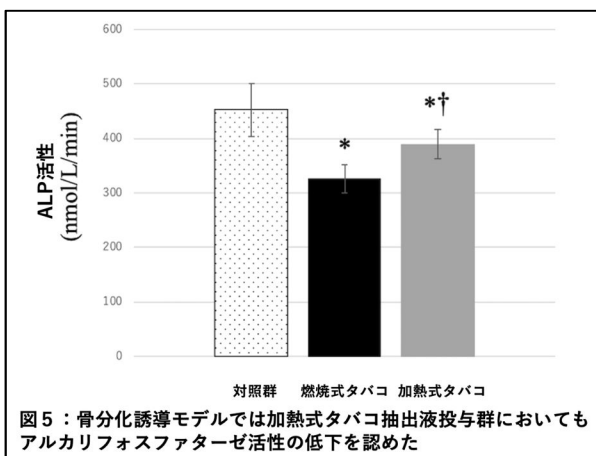
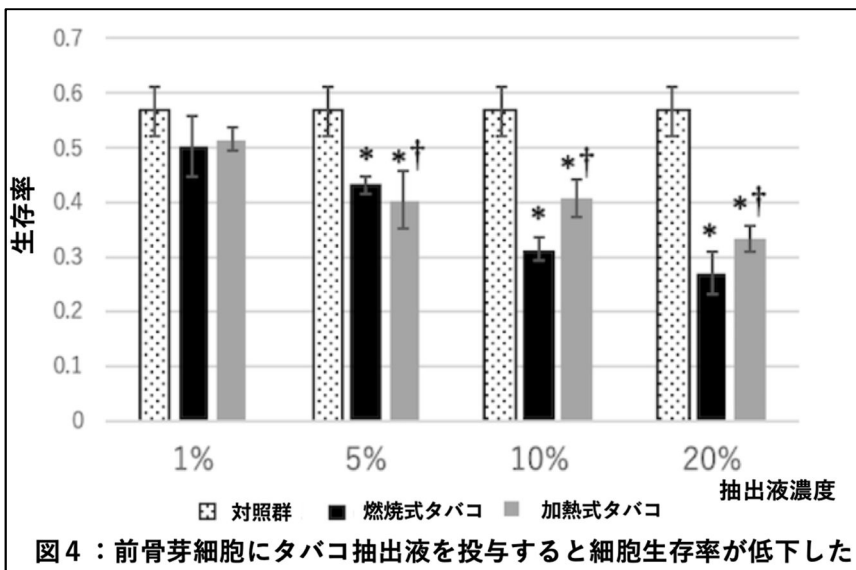
タバコ抽出液(Cigarette Smoke Extract;以下CSE)を燃烧式タバコ(cCSE)、加熱式タバコ(hCSE)でそれぞれ作成し(図1)、吸光度を測定して濃度を標準化した(図2)。In vitro 実験として、前骨芽細胞であるMC3T3E1に希釈したcCSE、hCSEを投与し、MTT assayを用いて細胞生存率を測定した。また、BMPを投与した骨分化誘導条件下にcCSE、hCSEを投与しALP活性、Alizarin red染色を用いて骨分化阻害作用を評価した。In vivo 実験としてLewis Latの大腿骨骨切りモデルに対してPBS、cCSE、hCSEを腹腔内投与し、4週後μCTを用いて骨組成、仮骨体積を評価し、3点曲げ試験により力学強度を測定した。(図3)



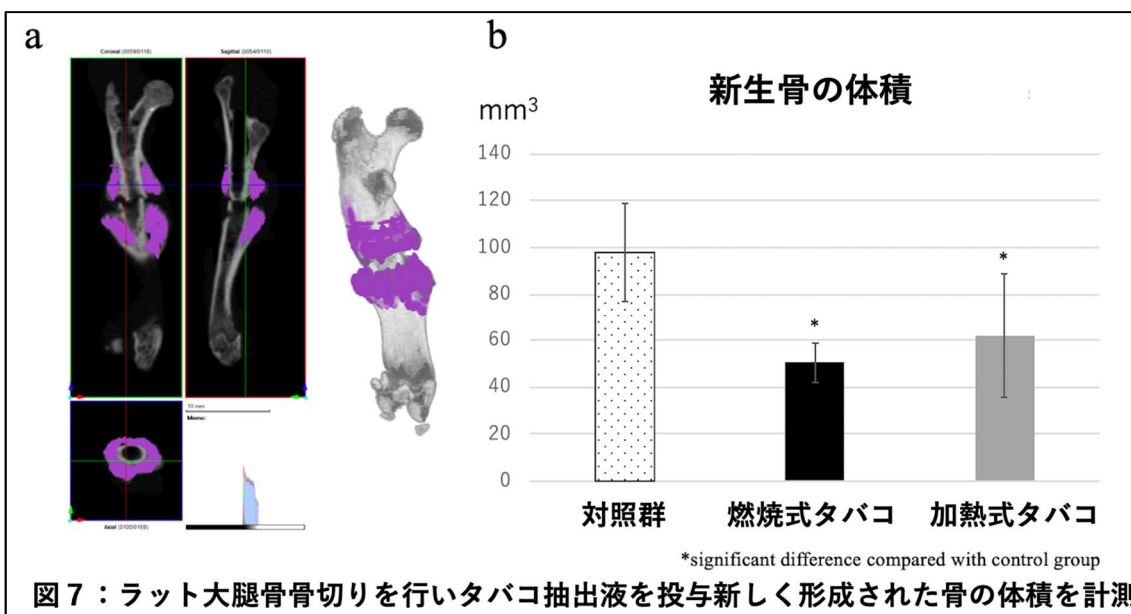
4. 研究成果

MC3T3E1の細胞生存率はcCSE、hCSE群共に時間、濃度依存性に有意に低下した(図4)。生存率が低下しない1%濃度を骨分化モデルに投与したところ、hCSE群のALP活性は対称群より有意に低く、cCSE群より高かった(図5)。Alizarin Red染色の陽性細胞面積も同様の結果であった。

(図 6)



In vivo 実験では、骨塩量、仮骨体積が cCSE、hCSE 群共に対称群と比較して有意に低下したが、両群間に差はなかった(図 7)。力学試験では最大荷重、弾性率が hCSE 群において対称群より有意に低く cCSE 群より高かった。(図 8、表 1)



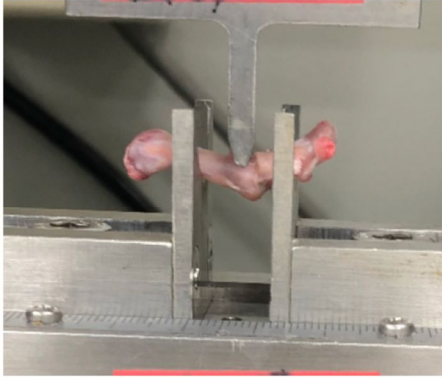


図8：力学試験の様子

表1：力学試験結果

	対照群	燃焼式タバコ	加熱式タバコ	P値
最大荷重 (N)	71.4 ± 8.7	39.3 ± 13.9*	41.0 ± 13.5*	.015
弾性率 (N/m ²)	31.6 ± 12.3	15.2 ± 5.6*	10.3 ± 6.3*	.019

Mean ± SD values are shown, *significant difference compared with control group

本研究結果から加熱式タバコも燃焼式と同様に細胞生存率を低下させ、骨分化、骨癒合の阻害をもたらすことが明らかとなった。骨癒合を必要とする手術に際して、整形外科医は加熱式タバコの禁煙も勧めるべきである。

本研究は『The Journal of Bone and Joint Surgery』(IF = 5.284) に論文掲載された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nishino Kazuya, Tamai Koji, Orita Kumi, Hashimoto Yusuke, Nakamura Hiroaki	4. 巻 Publish Ahead of Print
2. 論文標題 Heated Tobacco Products Impair Cell Viability, Osteoblastic Differentiation, and Bone Fracture-Healing	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Bone and Joint Surgery	6. 最初と最後の頁 2024-2031
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2106/JBJS.20.02227	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 西野 竜哉, 玉井 孝司, 荻 久美, 橋本 祐介, 中村 博亮
2. 発表標題 加熱式タバコは細胞生存率の低下、骨分化、骨癒合の阻害をもたらす
3. 学会等名 日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2021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	玉井 孝司 (Tamai Koji) (30711824)	大阪市立大学・大学院医学研究科・病院講師 (24402)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------