

令和 2 年 5 月 21 日現在

機関番号：13901

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2018～2019

課題番号：18H05958・19K21114

研究課題名(和文)大腿骨頭形成による大腿骨頭壊死への新規治療法の開発

研究課題名(英文) A new treatment method of femoral head plasty for osteonecrosis of the femoral head

研究代表者

大澤 郁介 (Osawa, Yusuke)

名古屋大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：40822812

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：ヒト大腿骨頭に対するBKPは骨頭圧潰後に長期経過したものは力学的に圧潰部を整復するのは困難であり、また容易にBalloonに穴が空いて破損するため、Balloonの素材を大きく改善する必要があった。モデルマウスにおいてはFGFR3の恒常的活性化(軟骨無形成症)により骨新性能が亢進していることに着目して大腿骨頭壊死部の骨再生に応用可能した。軟骨無形成マウスと野生型マウスにおいて画像および組織学的評価及びマイクロCT評価を行い、大腿骨頭部内の壊死骨及び新生骨を定量化を行った。結果として軟骨無形成マウスでは壊死部の圧潰が少ない傾向を認め、Tunel染色においても壊死部の再生が早い傾向を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の結果では骨壊死部に対する骨頭形成は力学的な観点の問題と考えられた。難治性疾患である大腿骨頭壊死は若年者のQOLを著しく損なう疾患であり、素材の改良を加えることでより低侵襲で簡便な治療法の確立が期待される。

FGFR3を用いた骨壊死組織のリモデリングは本研究の結果からも一定の効果があることが示唆された。さらなる研究の継続により、分子学的な機序の解明できることが今後の目標である。

研究成果の概要(英文)：As for BKP for human femoral head, it is difficult to mechanically reduct the collapsed part after a long time after crushing the head. It is easy to damage the balloon. Therefore, it is necessary to greatly improve the material of balloon. In model mice, we focused on the fact that the new bone performance was enhanced by constitutive activation of FGFR3 (chondrodysplasia), and it was applicable to bone regeneration at the necrotic part of the femoral head. Imaging and histological and micro-CT evaluations were performed on achondroplasty and wild-type mice to quantify necrotic and new bone in the condyle of the femoral. As a result, in the achondroplasia mice, the collapse of the necrotic part tended to be small, and in the Tunel staining, the necrotic part tended to regenerate quickly.

研究分野：整形外科

キーワード：大腿骨頭壊死

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

大腿骨頭壊死症は本邦の指定難治性疾患の一つであり、大腿骨頭の一部が血流の低下による壊死が起こることで大腿骨頭の圧潰を来し、疼痛により日常生活に大きな支障をきたす。発生頻度は10万人当たり約2人程度と推測されており、関連因子としてステロイドやアルコールなどが明らかとなっているが発症の詳しい機序はまだ解明されていない。本疾患の問題点としては比較的若年者に発症することで約半数において両側の股関節に発症する。治療方法として人工股関節全置換術及び関節温存手術が挙げられるが、人工股関節全置換術に関しては若年者に適応とする場合は長期的な耐用性の問題から推奨されない。一方で関節温存手術として大腿骨の骨切り術を当院では積極的に行ってきたがその長期成績は必ずしも良好ではなく、結果的に失敗した関節温存手術はその後に行われた人工股関節全置換術の成績にまで影響を与えていることが明らかとなった。このような背景から近年では関節温存手術は減少傾向にあり、それに代わる若年者の大腿骨頭壊死症に対する安定した治療法を確立することが急務である。

2. 研究の目的

一方で医療用セメント及びバルーンを使用した治療として代表的なものとしては脊椎圧迫骨折の偽関節に対する balloon kyphoplasty であり、その良好な治療成績が世界中から報告されている。また近年ではその技術を応用して上下肢の骨折治療に応用した良好な治療報告も散見される。今回、我々はこの技術を大腿骨頭壊死に応用する大腿骨頭形成(Balloon femoral head plasty: BFP)が簡便かつ低侵襲で除痛及び変形した骨頭の形状を修復できる新規治療法となりうる可能性を考えた。本研究の目的は BFP を行うことで圧潰した骨頭をどの程度まで正常に回復させ、力学的な安定を再建することができるのか評価することである。また我々の過去の研究の結果で FGFR3 の恒常的活性化が骨新生の促進に働くことが明らかとなった。この研究結果をもとに大腿骨頭の壊死組織の骨リモデリングに有効に働くのではないかと仮説を立て、FGFR3 が難治性疾患である大腿骨頭壊死に対する新規治療法となりうる可能性を考えた。軟骨無形成性症モデルマウスと野生型マウスの大腿骨頭壊死モデルを作成し、FGFR3 の恒常的活性化が大腿骨頭壊死部の骨リモデリングに与える影響を調査するも合わせて行った。

3. 研究の方法

(1) ヒト大腿骨頭を用いた BFP の力学的試験

大腿骨頭に関しては当院で大腿骨頭壊死患者に対して施行される人工股関節置換術の際に廃棄されるヒトの大腿骨頭を用いて行う。BFP に関しては Medtronic 社 Kyphone BKP システムを用いて X 線透視下で行う。セメントの注入の際に関節内にセメントが漏れるリスクがあるため、大腿骨頭の圧潰程度に分けて調査を行い、同時に本法の適応となりうる圧潰の stage を慎重に判断する。画像評価はマイクロ CT を用いて行い、圧潰した骨頭がどの程度まで正常な骨頭の形状へと修復されたかを本法の施行前と後で骨頭の体積を定量化して圧潰の改善率を算出する。力学的評価としては、外部検査機関に委託して圧縮試験を行う。骨力学パラメータである圧縮強さ(MPa)、座屈弾性率(MPa)について算出する。

(2) 動物による大腿骨頭壊死モデルを用いた X 線学評価及び力学的負荷試験

アルコール肝炎食を用いてラットのアルコール性大腿骨頭壊死モデルを本研究では使用する予定であるが他の研究で本モデルの作成はすでに確立されている。まず大腿骨頭壊死モデルの壊死の有無、範囲を確認するため、マイクロ CT 及び MRI を行う。その後、BFP 施行群と非治療群の 2 群に分けて、継時的な大腿骨頭の圧潰を X 線及びマイクロ CT にて評価を行う。ラットの BKP については血管拡張用カテーテルを用いる予定である。同時に BFP 施行群、正常骨頭群(普通食を用いた通常ラット)の 2 群において力学的安定性を評価するため、外部検査機関に委託して圧縮試験を行う。骨力学パラメータについては前出と同様の評価を行い、BFP によって正常骨頭と比較して獲得できる強度を評価する。

(3) マウス壊死モデルの確立

本研究では Col2a1 プロモーター下に FGFR3 の恒常的活性化型変異が導入された軟骨無形成性症モデルマウスを使用する。大腿骨頭壊死モデルに関しては多くはラット、ウサギ、豚などで作成されたものが多く認められる。本研究では従来の壊死モデルマウスとは一線を画す大腿骨頭壊死モデルマウスで行うこととした。

(4) マウス壊死モデルの X 線学的評価および組織学的評価

骨壊死モデル手術後 1、3、6 週間後に同腹同性の軟骨無形成性症モデルマウスと野生型マウスの画像および組織学的に評価する。大腿骨頭壊死モデルの壊死の有無、範囲を確認するため、軟 X 線およびマイクロ CT を用いて行い、大腿骨頭部内の壊死骨及び新生骨を定量化する。マイクロ CT により標的部位の骨密度、骨梁幅、骨梁数など骨構造パラメータを算出し、軟骨無形成性症モデルマウスと野生型マウスで比較する。さらに 2 群における継時的な壊死部位の圧潰及び骨リ

モデリングの過程を軟X線及びマイクロCTにて評価する。組織学的評価としては、標的部位を含む切片を作製し、骨壊死の組織評価に関しては TUNEL 染色、骨リモデリングの組織評価は SO/FG、ALP、TRAP 染色及び FGFR3 抗体による免疫染色を行う。また、非脱灰標本による Villanueva Goldner 染色にて骨形成パラメータ（類骨面、骨芽細胞面、骨石灰化面、石灰化速度）、骨吸収パラメータ（骨吸収面、破骨細胞数）を計測し、組織形態学的検討を行う。

4. 研究成果

(1) ヒト大腿骨頭を用いた BFP の力学的試験

医療用セメント及びバルーンを使用した治療として balloon kyphoplasty があり、この技術を大腿骨頭壊死に応用する大腿骨頭形成 (Balloon femoral head plasty: BFP) が簡便かつ低侵襲で除痛及び変形した骨頭の形状を修復できる新規治療法となりうる可能性を考えた。BFP をヒト大腿骨頭に応用することに関しては 2 つの大きな問題点が挙げられた。一つは骨頭圧潰後に長期経過した骨頭では Balloon では力学的に圧潰部を修復するのは困難であった。もう一点としては容易に Balloon に穴が空いて破損するため、Balloon 事態の素材を大きく改善する必要があった。その他にも早期圧潰に対して BFP を行っても、軟骨下にセメントが流入して圧潰部を持ち上げるため、セメントの骨折部からの流出などの問題点が認められた。上記理由により、BFP の実験が困難であったため、大腿骨壊死モデル マウスへの研究に移行した。

(2) マウス壊死モデルの確立

大腿骨壊死モデルに関しては多くはラット、ウサギ、豚などで作成されたものが多く認められる。本研究では従来の壊死モデルマウスとは一線を画す大腿骨壊死モデルマウスで行うこととした。大腿骨壊死モデルマウスに関しては過去の論文をもとに作成した。壊死モデルの作成手技としては鎮静下のマウスの膝関節内側に皮膚切開を行い(図 1)、膝蓋骨を翻転させた後に骨端を露出して栄養血管を確認後に焼却を行い(図 2)、周辺組織の鬱血像を確認して閉創した(図 3)。手技上のバラツキは認めるもののすでに大腿骨顆部壊死モデルの作成に成功した。

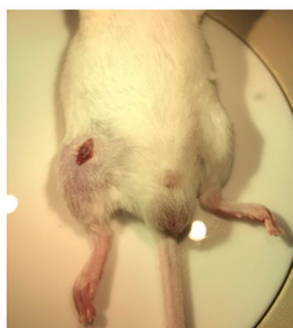


図1. マウス大腿骨顆部の内側に皮膚切開する

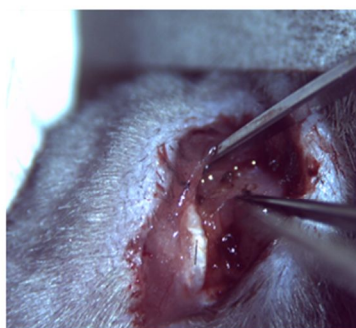


図2. 膝蓋骨を外側に翻転させた後に大腿骨顆部を露出し、血管凝固

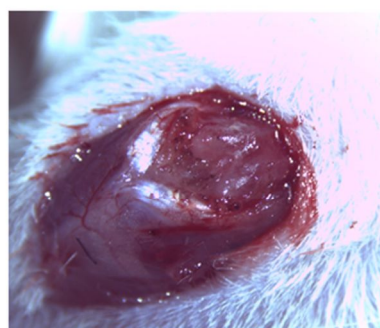


図3. 周辺組織の鬱血像を確認して閉創

(3) マウス壊死モデルの X 線学的評価および組織学的評価

術後6週でのマイクロCTにおける軟骨無形成症マウスでは壊死部の圧潰が野生型マウスと比較して少ない傾向を認めた(図 4)。大腿骨顆部の横径と高さの比率での評価においても Ach マウスで圧潰が少ない傾向を認める(図 5)。骨構造パラメータについては骨密度及び骨梁幅については Ach マウスで良好な傾向を認める(図 6)。現状ではまた術後の継時的な TUNEL 染色における評価においても壊死部の再生が早い傾向を認めた。手術施行数がまだ少ないため、更なる画像評価及び組織学的評価を追加していきたい。

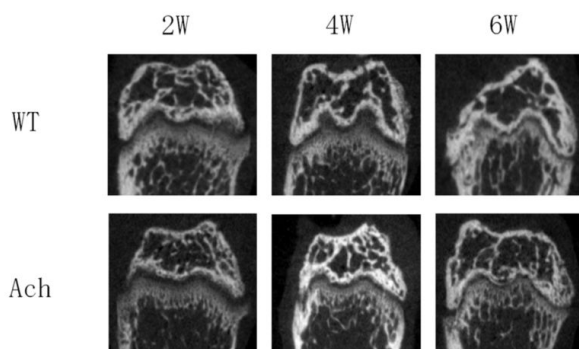


図4. 野生型マウスでは6週の大腿骨顆における壊死部の圧潰を認めるが、Achマウスでは圧潰の程度は軽度

Ratio of the height and width= A/B

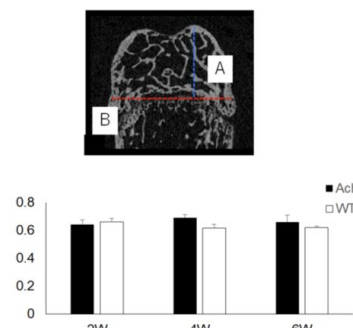


図5. 大腿骨顆部の横径と高さの比率はAchマウスで良好な傾向

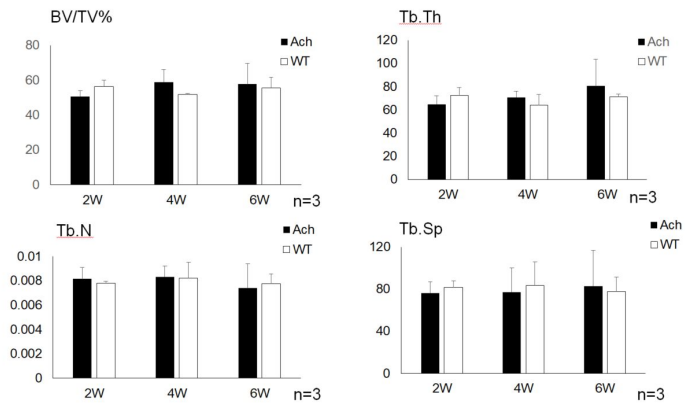


図6. 骨構造パラメーターでは骨密度、骨梁幅においてAchマウスで良好な傾向

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Osawa Yusuke	4. 巻 42
2. 論文標題 Do femoral head collapse and the contralateral condition affect patient-reported quality of life and referral pain in patients with osteonecrosis of the femoral head?	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Orthopaedics	6. 最初と最後の頁 1463-1468
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00264-018-3867-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Osawa Yusuke	4. 巻 42
2. 論文標題 Cementless total hip arthroplasty for osteonecrosis and osteoarthritis produce similar results at ten years follow-up when matched for age and gender.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Orthopaedics	6. 最初と最後の頁 1683-1688
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00264-018-3987-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----