

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 14 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26861175

研究課題名(和文) 脊椎腫瘍に対する免疫療法を併用した根治的手術(次世代TES)の骨癒合に関する研究

研究課題名(英文) Bone fusion of autograft treated with liquid nitrogen for spinal tumor surgery

研究代表者

吉岡 克人(Yoshioka, Katsuhito)

金沢大学・医薬保健学総合研究科・特任助教

研究者番号：30525043

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,000,000円

研究成果の概要(和文)：腫瘍に侵された骨組織を液体窒素で凍結させると腫瘍は死滅することがすでに報告されている。今回、イヌの動物実験において、脊椎の再建に液体窒素で凍結した骨を使用したところ、新鮮な骨を用いるよりも骨癒合の速度は遅かったものの、新鮮骨と同様に完全な骨癒合が得られることが判明した。これにより腫瘍脊椎骨全摘術において、摘出した腫瘍に侵された脊椎骨を液体窒素で凍結し、移植骨として使用しても問題なく骨癒合すると言える。

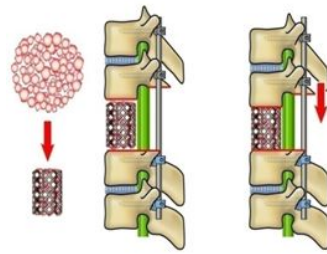
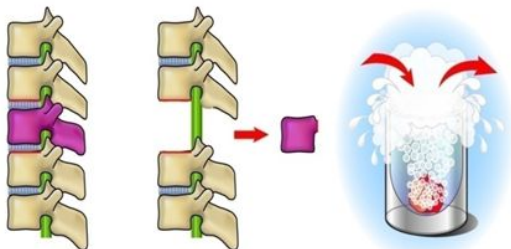
研究成果の概要(英文)：It has been reported that tumor cells were completely killed by freezing in liquid nitrogen for 20 minutes. We packed autograft treated with liquid nitrogen or fresh auto graft into a cage used for vertebral body reconstruction in canine experiment. Fusion results of the autograft treated with liquid nitrogen group were nearly identical to the fresh autologous group. Therefore, autograft treated with liquid nitrogen is as beneficial as fresh autograft for total en bloc spondylectomy for spinal tumor.

研究分野：脊椎腫瘍

キーワード：液体窒素処理骨 脊椎腫瘍骨全摘術 骨癒合

1. 研究開始当初の背景

当教室では癌の脊椎転移などの脊椎腫瘍に対し、「腫瘍脊椎骨全摘術：Total en bloc spondylectomy (以下 TES)」を開発し、200 例に及び局所根治術を施行してきた。近年では癌免疫を活性化できる凍結免疫を応用した「次世代 TES」を行っている。これは、従来の TES に加え、Cryosurgery(凍結外科)の分野で行われている癌の凍結手術による全身の癌免疫の活性化させる治療を掛け合わせた革新的な手術である。四肢の悪性腫瘍骨を液体窒素で凍結させると蛋白や有機物を温存したまま、がん細胞を死滅させることができるという特徴は証明されており 9)、既に、当教室では腫瘍骨を液体窒素で 20 分処理し再建に用いる、自家液体窒素処理骨移植術は先進医療として認定されている。さらには、術後に IFN- γ 、IL-6 の上昇を認め細胞性免疫の増強も確認されている 10)。しかしながら、脊椎では TES では脊椎骨(病巣)を一塊として(“en bloc”に)全切除するために、脊椎骨周囲の軟部組織を全て剥離する。さらに脊髄が隣接するという解剖学的性質のため、軟部組織で覆うことができない。その結果、移植骨は上下の椎体以外の周囲組織との接触はなく、骨癒合を得るための血流供給の面で非常に不利な環境となる。従来の再建では、多くは腸骨などの自家骨を用いての再建を行っていたが、担癌患者では腫瘍細胞が混入する可能性も否定できなかった。インプラントのみで再建する方法もあるが、生物学的な骨癒合やリモデリングが得られない場合、インプラントへの長期にわたる力学的ストレスが集中することになり、金属疲労によるスクリューの折損やロッドの破綻が起こることになる。TES により局所根治が達成でき、さらには癌免疫の活性化により長期予後が期待できる現在、自家液体窒素処理移植骨の生着(骨癒合、リモデリング)骨癒合が、再建後の成績を左右する最大の要因となる。



参考文献

- 1) Tomita K, Kawahara N, Baba H, Tsuchiya H, Nagata S, Toribatake Y. Total en bloc spondylectomy for solitary spinal metastasis. *Int Orthop* 1994; 18: 291-8.
- 2) Tomita K, Toribatake Y, Kawahara N, Ohnari H, Kose H. Total en bloc spondylectomy and circumspinal decompression for solitary spinal metastasis. *Paraplegia* 1994; 32: 36-46.
- 3) Tomita K, Kawahara N, Baba H, Tsuchiya H, Fujita T, Toribatake Y. Total en bloc spondylectomy. A new surgical technique for primary malignant vertebral tumors. *Spine* 1997; 22: 324-33.
- 4) Tomita K, Kawahara N, Murakami H, Demura S. Total en bloc spondylectomy for spinal tumors: improvement of the technique and its associated basic background. *J Orthop Sci* 2006; 11: 3-12.
- 5) Kawahara N, Tomita K, Murakami H, Demura S. Total en bloc spondylectomy for spinal tumors: surgical techniques and related basic background. *Orthop Clin North Am* 2009; 40: 47-63.
- 6) Ablin RJ, Soanes WA, Gonder MJ: Prospects for cryo-immunotherapy in case of metastasizing carcinoma of the prostate. *Cryobiology* 1971; 8: 271-279.
- 7) Sabel MS, Nehs MA, Su G, et al: Immunologic response to cryoablation of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2005; 90: 97-104.
- 8) Osada S, Imai H, Tomita H, et al: Serum cytokine levels in response to hepatic cryoablation. *J Surg Oncol* 2007; 95: 491-498.
- 9) 山本恵男: 液体窒素処理自家腫瘍骨の移植に関する実験的研究. 金沢大学十全医学会雑誌 2000;109(3):193 - 202
- 10) 西田英司, 土屋弘行, 白井寿治, 他: 悪性骨腫瘍に対する液体窒素処理骨再建後の免疫増強の臨床学的検討. 中部整災誌 2008; 51(1): 81-82

2. 研究の目的

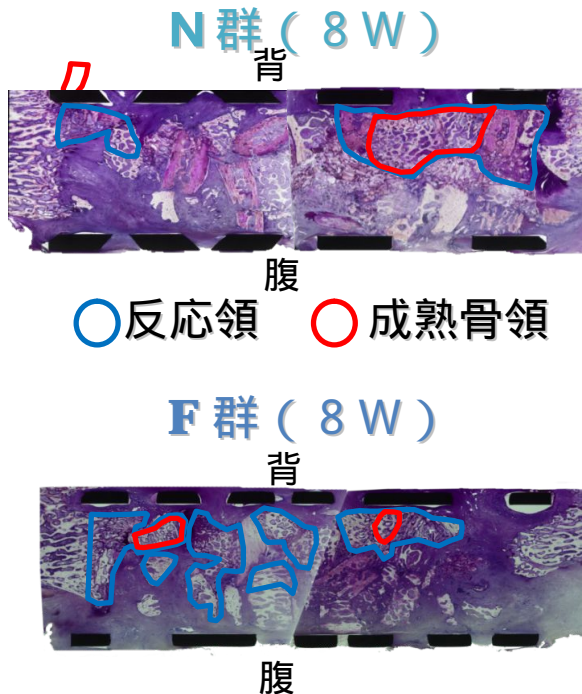
脊椎において、粉碎した液体窒素処理骨がこれまで用いてきた新鮮自家骨と同様に骨癒合が得られることを明らかにする。

3. 研究の方法

ビーグル犬 14 頭に対して、前方アプローチにより 1 椎骨（第 5 腰椎）の全摘出術を施行する。上下の椎体に screw を刺入し、椎体切除した部分に移植骨をパッキングした titanium cage を挿入した後、screw を rod（チタン製の棒）で接続することで脊椎の再建を行う。液体窒素処理骨を用いて再建した F 群、新鮮自家骨を用いて再建する N 群の、それぞれの群で 8 週、16 週、1 年で屠殺を行い、屠殺し摘出した再建椎体から、titanium cage 内の移植骨の切片標本を作製し、組織学的に各部の骨形成過程の特徴を検討した。特に両グループ間での骨形成の違いと、術後経過期間による骨形成の違いを検討する。

4. 研究成果

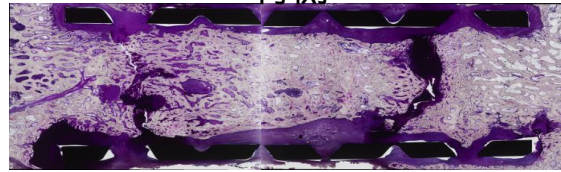
骨形成量の検討では、反応領域では N 群でのみ 8 週から 16 週にかけて有意差を持って上昇していたが、成熟骨領域では両群ともに有意に上昇していた。また、同時期の検討では両群で有意差は認めず、両群ともに良好な骨形成が行われていた。骨形成過程の検討では、反応領域に関しては 8w では N 群、F 群ともに背側、ケージ端で有意に割合が多く、両群ともに背側、ケージ端から骨形成が開始されていた。



16w では F 群においては背側、ケージ端で有意に割合が多いのに対して、N 群においてはケージ端と中央で有意差を認めず、16w の時点でケージ中央まで骨形成反応が及んでいた。成熟骨領域に関しても同等の結果であっ

た。また、1 年で屠殺を行った標本では、両群ともにケージ内全体でリモデリングが行われており、完全に骨癒合していた。

F 群 (1y)



腹側

以上より新鮮自家骨と比べるとやや骨形成は遅れるものの、液体窒素処理骨を用いても、ケージ内の骨癒合は得られることが組織学的に判明した。液体窒素処理を行うことで、腫瘍骨内の腫瘍細胞は死滅することが報告されている。我々は腫瘍脊椎骨全摘術において摘出した腫瘍椎体に液体窒素処理を行い、移植骨として用いているが、今回の研究により、脊椎腫瘍骨全摘術において液体窒素処理した腫瘍椎体を移植骨として用いても、骨癒合が得られることが判明した。

5. 主な発表論文等

〔研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線〕

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 2 件)

1. 液体窒素処理骨を用いた椎体再建における骨形成過程の組織学的検討

新村和也, 村上英樹, 出村諭, 加藤仁志, 吉岡克人, 林寛之, 井上啓, 太田敬, 横川文彬, 藤井衛之, 五十嵐峻, 土屋弘行 第 30 回日本整形外科学会基礎学術集会 (富山) 10 月 22 23 日

2. 液体窒素処理骨を用いた椎体再建における骨形成過程の組織学的検討

新村和也, 村上英樹, 出村諭, 加藤仁志, 吉岡克人, 林寛之, 井上啓, 太田敬, 横川文彬, 藤井衛之, 五十嵐峻, 土屋弘行 第 44 回日本脊椎脊髄病学会学術集会 (福岡) 4 月 16 18 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉岡 克人 (YOSHIOKA Katsuhito)
金沢大学・医薬保健学総合研究科・特任助
教
研究者番号：30525043

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：