

令和元年6月17日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10829

研究課題名(和文) ラット脊椎固定モデルにおける抗RANKL抗体とBMPの相互効果の検討

研究課題名(英文) Analysis of Enhancing Effects of the Anti-RANKL antibody and Bone Morphogenetic Protein in a Rat Spinal Fusion Model.

研究代表者

宮崎 正志 (Miyazaki, Masashi)

大分大学・医学部・講師

研究者番号：30527742

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：ラット脊椎固定モデルを用いてBone morphogenetic protein (BMP)と抗RANKL抗体の骨融合への影響や、当大学で開発させたExfoliated carbon nanofiber(ExCNF)の担体としての有効性と安全性を検討することを目的とした。その結果、少量のBMPを用いることで当大学で開発させたExCNFの担体としての有効性が示された。この研究により、脊椎固定術の骨癒合率の向上と医療費の軽減が期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脊椎脊髄外科領域において脊椎固定術は最も頻りに施行されている手技である。しかしながら、様々な治療法の進歩にかかわらず、いまだ、その骨癒合率は満足できるものではなく、偽関節率は5-43%と報告されている。Carbon Nanotubeは再生医療における足場材料として注目されている。当大学で開発されたExfoliated Carbon Nanofiber (ExCNF)は、活性端を通常のCarbon Nanotubeより多く有するために骨形成において、さらなる有効性が期待されている。我々の研究ではExCNFと少量のBMPを用いることで脊椎固定術の骨癒合率の向上が認められた。

研究成果の概要(英文)：We aimed to enhance the effects of Exfoliated carbon nanofiber(ExCNF) using bone morphogenetic proteins (BMPs) and examined their feasibility and safety in clinical applications using a rat spinal fusion model. It was demonstrated the enhancement of ExCNF bone fusion effects by BMP in a rat spinal fusion model. Our results suggest that the enhancement of ExCNFs effects by BMP makes this combination a possible attractive therapy for spinal fusion surgeries.

研究分野：脊椎脊髄外科

キーワード：ラット 脊椎固定 BMP カーボンナノファイバー

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

#### 1. 研究開始当初の背景

脊椎脊髄外科領域において脊椎固定術は最も頻繁に施行されている手技である。しかしながら、様々な治療法の進歩にかかわらず、いまだ、その骨癒合率は満足できるものではなく、偽関節率は5-43%と報告されている。Bone morphogenic protein (BMP)は強力な骨形成能と軟骨形成能、血管新生能を有する蛋白であり、米国においては脊椎固定術に対して使用が認められている。しかしながら、BMPはその効果が期待される分、非常に高価であり、また、臨床報告によると、十分な骨癒合を得るためには多量のBMPが必要とされるため、医療費用が問題となる。様々なBMPを用いたより効果的で安価な脊椎固定術の方法が模索されている。Carbon Nanotubeは再生医療における足場材料として注目されており、中でも骨再生における有効性が多数報告されている。当大学で開発されたExfoliated Carbon Nanofiber (ExCNF)は、活性端を通常のCarbon Nanotubeより多く有するために骨形成において、さらなる有効性が期待されている。

#### 2. 研究の目的

ラットモデルを用いてBMPと当大学で開発させたExCNFの担体としての有効性と安全性を検討することを目的とした。本研究の成果により、脊椎脊髄外科領域の医療費用の軽減と脊椎固定術における骨癒合率向上へ繋がると考えられる。

#### 3. 研究の方法

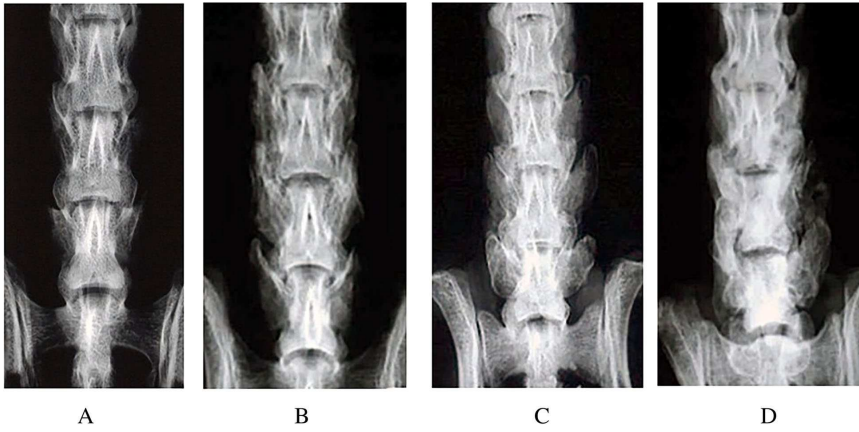
ラット脊椎固定モデルにおいて、ExCNFとBMPを投与した際の相互効果を実験した。全身麻酔下、ラット脊椎固定モデルを作成する。ラットの背部を約4cm切開し傍脊柱筋を筋膜から切開しL4、L5の脊椎横突起を展開する。横突起の皮質骨をcutting barにてdecorticationした後、横突起間にBMPをExCNF含有の担体とともに置く。傍脊柱筋および皮膚を縫合する。実験は4群にわけ、Group I、生理食塩水の担体のみ；Group IIは1 $\mu$ g ExCNF含有の担体、Group III、BMP-2(1 $\mu$ g)を移植；Group IV、BMP-2(1 $\mu$ g)+1 $\mu$ g ExCNF含有の担体として、ラット脊椎固定の実験を行う。各群ともに9から11匹、計40匹の実験を行った。手術8週間後に徒手骨癒合試験、X線撮影、H.E染色による病理組織標本作製する。レントゲン像から骨癒合の判定の有無と、病理組織標本から組織学的骨癒合評価、架橋形成、骨髄の大きさ、細胞浸潤の程度など検討した。さらにmicroCTを用いて新生骨の性状を詳細に検討した。

#### 4. 研究成果

ラット脊椎固定モデルにおいて徒手骨癒合試験の結果は術後8週間後においてGroup I、生理食塩水の担体は0%；Group II、1 $\mu$ g ExCNF含有の担体のみは15%；Group III BMP-2(1 $\mu$ g)は30.0%；Group IV、1 BMP-2(1 $\mu$ g)+1 $\mu$ g ExCNF含有の担体は45.5%とGroup IVが著明に他のGroupと比較して高かった。軟線レントゲン撮影による評価は3検者による盲検法にて施行し4面にて骨癒合を評価した。その結果もGroup I、0.14；Group II、0.81；Group III、1.42；Group IV、3.65とGroup IVが著明に他のGroupと比較して高かった。

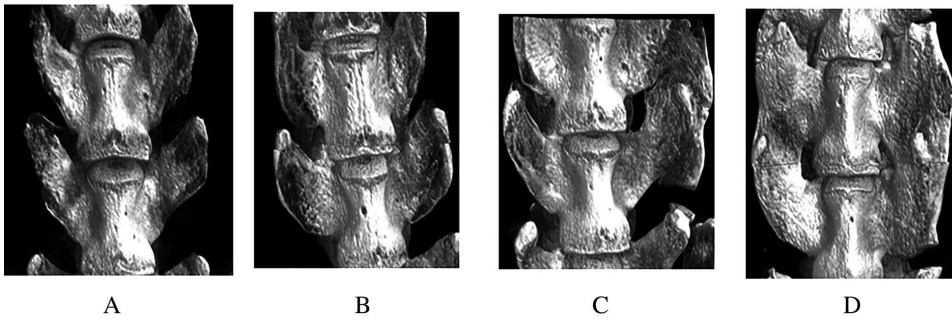
マイクロCTによる解析ではTV、BVがGroup IVが著明に他のGroupと比較して高かった。組織学的評価においてはGroup Iでは横突起間部に線維組織の形成が目立ち、骨形成は認めなかった。Group IIでは未熟な骨組織を認める。Group IIIでは横突起間部には軟骨仮骨が大部分を占めている。Group IVでは成熟した骨組織および骨梁形成をみとめた。

術後 8 週の X 線画像



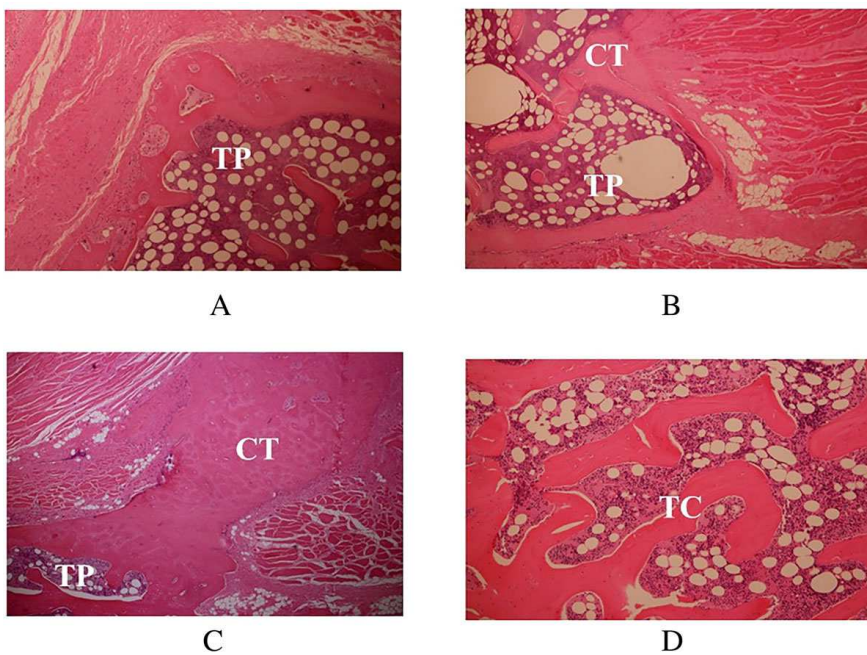
(A) Group I, (B) Group II, (C) Group III, (D) Group IV

術後 8 週のマイクロ CT 3D 画像



(A) Group I, (B) Group II, (C) Group III, (D) Group IV

病理組織像



(A) Group I (magnification×40),  
(B) Group II (magnification × 40),  
(C) Group III (magnification × 40),  
(D) Group IV (magnification × 40)

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 1 件)

1. Notani N, Miyazaki M, Toyoda M, Kanezaki S, Ishihara T, Tsumura H. Enhancing the Effects of Exfoliated Carbon Nanofibers using Bone Morphogenetic Protein in a Rat Spinal Fusion Model. J Orthop Res. 2018 Nov;36(11):2892-2900. (査読有)

[学会発表] (計 1 件)

1. 野谷 尚樹, 宮崎 正志, 金崎 彰三, 石原 俊信, 津村 弘  
ラット脊椎固定モデルにおける Exfoliated carbon nanofiber による Bone morphogenetic protein の骨癒合促進効果への影響に関する検討. 第 46 回日本脊椎脊髄病学会学術集会 2017 年 4 月 13 日から 4 月 15 日 札幌

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

## 6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：宮崎 正志

ローマ字氏名：Miyazaki Masashi

所属研究機関名：大分大学

部局名：医学部

職名：講師

研究者番号 (8 桁)：30527742

※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。