

令和 2 年 5 月 29 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16658

研究課題名(和文) 肋骨の骨・軟骨柱を用いた小児成長軟骨帯損傷に対する新規治療法開発

研究課題名(英文) Development of novel therapy for infant growth plate injury using osteochondral graft of ribs

研究代表者

吉田 清志 (Yoshida, Kiyoshi)

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：50645570

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)：小児期の成長軟骨帯損傷は四肢長管骨の変形や短縮をもたらすため、損傷軟骨の再生治療の開発が期待されている。本研究ではウサギ同種肋軟骨柱移植を用いた損傷成長軟骨帯の再生実験を行った。部分成長軟骨帯損傷モデルを作成し移植実験を行い、画像評価及び組織学的評価を行った。画像評価では肋軟骨柱移植群では対照群に比較して有意に下肢変形の改善を認めた。組織学的評価において肋軟骨移植群では骨性架橋部位の減少を認め、移植部位に柱状の層構造を有しサフラニン0染色で濃染される軟骨基質を有した軟骨様細胞の再生を認めた。以上から成長軟骨帯損傷に対する肋軟骨柱移植が有効であることを証明することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

小児期の成長軟骨帯損傷は四肢長管骨の変形や短縮をもたらす、大きな障害を呈することがある。このことから損傷した成長軟骨帯の再生を目的とした治療の開発が期待されている。損傷軟骨自体の再生を主目的とする治療は臨床応用されておらず、社会的意義の高い研究である。従来は人工物などを充填することで変形増悪を予防する治療が行われている。少数ではあるが、細胞移植等も試みられているが事前の組織採取や多量の細胞培養をよとする欠点がある。そこで組織移植による成長軟骨帯再生を目指した研究を行い、より安全で早期に臨床応用に繋がる研究である。

研究成果の概要(英文)：Growth plate injury in children bring about the deformity and shortening of limb and development of regeneration therapy for growth plate injury has been expected. In this study, the transplantation of rabbit costal osteochondral graft for growth plate injury was performed. A partial growth plate injury model in rabbits was prepared and transplantation was performed. After surgery, image evaluation and histological evaluation was conducted. In the image evaluation, deformities of lower limb were significantly improved in the costal osteochondral graft compared to the control group. In the histological evaluation, bony bridge at the injured site was decreased in the costal osteochondral graft group and the regeneration of cartilage like cells having a columnar layer structure at the transplantation site was observed and these cells were deeply stained by Safranin 0 staining. There results showed that the costal osteochondral graft could be useful for the growth plate injury.

研究分野：整形外科

キーワード：成長軟骨帯損傷 肋軟骨柱 軟骨再生

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

小児期の成長軟骨帯は外傷などで一旦損傷を受けると軟骨組織が消失して骨組織に置換される。そのため損傷後は骨成長が障害され四肢長管骨の変形や短縮をもたらす。現在の治療方法は損傷部位に自家脂肪やボーンワックスなどの人工物を移植しているが、損傷軟骨の再生は困難であり変形や短縮を呈することも多い。細胞移植の研究もおこなわれているが小児に使用する際には事前の組織採取や培養時の血清使用などの問題があり早期の臨床応用は困難である。これらのことを踏まえて、損傷した成長軟骨を組織移植により1次修復可能ではないかと考え本研究をスタートした。

2. 研究の目的

損傷した成長軟骨帯を再生することを目的として以下のことを検討した。

- (1) 肋軟骨柱を用いた組織移植により損傷した成長軟骨が再生可能かを検討した。
- (2) 組織移植により成長軟骨帯損傷により生じる骨変形や短縮が改善するかを検討した。

3. 研究の方法

幼若なウサギを用いて部分成長軟骨帯損傷モデルを作成した (Yoshida, et al. J Pediatr Orthop. 2012)。

(1) New Zealand White Rabbit 6週齢の脛骨近位内側成長軟骨帯を外科的に径5mm、深さ5mmの欠損を作成した。

(2) 欠損部位に組織移植を行った。以下の4群に分けて検証した。

- 1群. 対照群: 移植なし
- 2群. ボーンワックス群: 欠損部に現在行われている治療であるボーンワックスを移植
- 3群. 肋軟骨移植群: 同種ウサギから採取した肋軟骨を移植
- 4群. 肋軟骨柱移植群: 同種ウサギから肋骨・肋軟骨移行部から肋軟骨柱を採取して移植

手術方法

6 week-old New Zealand White Rabbit ♂



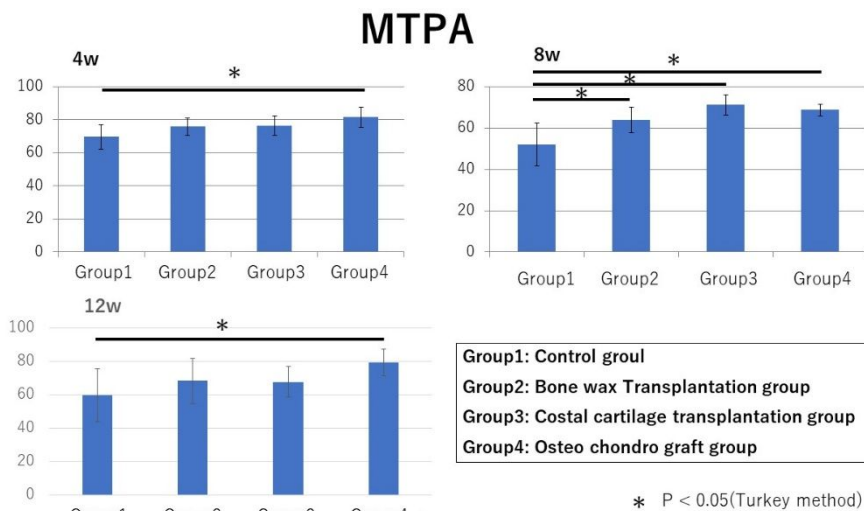
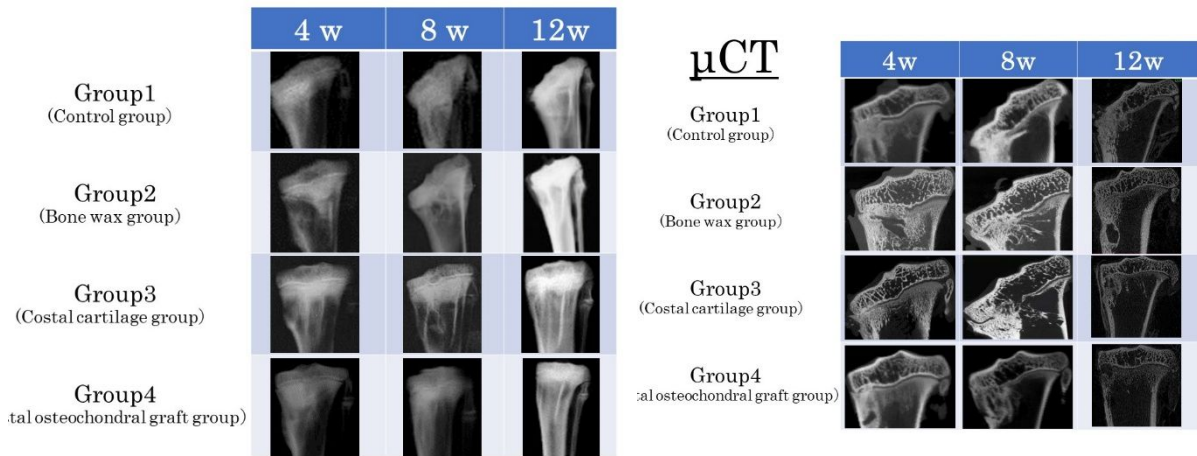
(3) 移植後4週、8週、12週時に画像評価及び組織学評価を行った。画像評価は単純X線、μCT画像、組織学評価は組織染色(HE染色、サフランIN染色)、免疫染色(II, X型コラーゲン)を行った。

4. 研究成果

(1) 肋軟骨柱移植による変形矯正

4群に分けて成長軟骨帯損傷部位に移植を行った。手術後8週でボーンワックス群、肋軟骨移植群、肋軟骨柱移植群において対照群に比較して有意な変形改善を認め、手術後12週では肋軟骨柱移植群のみで有意に下肢変形の改善を認めた。

μCTで肋軟骨柱移植群では骨性架橋の減少及び成長軟骨帯領域の再形成を認めた。



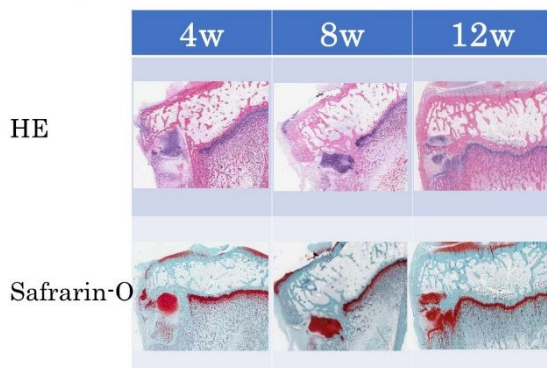
MPTA: Medial Proximal Tibial Angle (近位脛骨内反変形角度)

(2) 肋軟骨移植による成長軟骨帯様組織再生

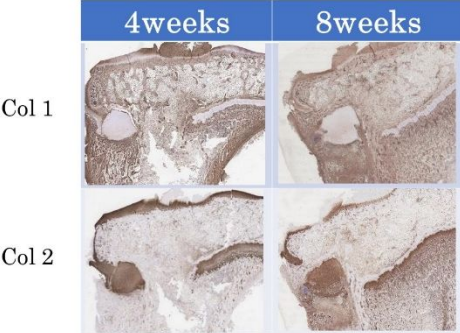
組織学評価において対照群は損傷部位が骨組織に置換され骨性架橋を生じていたが、ボーンワックス群、肋軟骨移植群では骨性架橋の減少を認めた。肋軟骨移植群では移植した肋軟骨は手術後 8 週経過でもサフラニン O 染色で濃染される軟骨基質を認めた。肋軟骨柱移植群では移植組織がサフラニン O 染色で濃染され軟骨基質が維持されていた。手術後 12 週では肋軟骨柱移植群では移植組織の周囲に軟骨様組織の再生を認めた。手術 8 週での免疫染色で移植肋軟骨柱及び周囲の再生組織は II 型コラーゲンで染色され軟骨特性を有していると考えられた。さらに X 型コラーゲンでも染色される肥大軟骨様細胞の再生も認めた。

これらの結果はウサギの部分成長軟骨帯損傷モデルにおいて肋軟骨柱移植が変形改善だけでなく、成長軟骨帯様組織の再生が可能であることを示唆していた。肋軟骨に比べて骨柱を加えることで組織の viability を維持することでより軟骨様細胞の再生を認めたと考えられた。肋軟骨柱を関節軟骨再生に用いる報告は存在するが、成長軟骨再生に用いた研究はほとんど存在しない。そのため本研究を進展させることで成長軟骨帯損傷に対する新たな有効な治療となりうることが示唆された。

Group 4 (Costal osteochondral graft group)



Group 4 (Costal osteochondral graft group)



Group 4 (Costal osteochondral graft group)



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Orito R, Yoshida K, Kobayashi M, Ota H
2. 発表標題 Treatment of partial growth arrest using cylindrical costal osteochondral graft.
3. 学会等名 9th international conference on children's health (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Orito R, Yoshida K, Kobayashi M, Ota H
2. 発表標題 Treatment of partial growth arrest using cylindrical costal osteochondral graft.
3. 学会等名 ORS 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020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