

令和 4 年 6 月 24 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09548

研究課題名(和文) 悪性骨腫瘍切除後処理骨ラットモデルを用いた付加処置による処理骨単独再建の確立

研究課題名(英文) Establishment of an animal model of a pasteurized or frozen bone graft fixed with PEEK plate. A preliminary analysis of FGF-2 administration to the graft

研究代表者

坂本 昭夫 (Sakamoto, Akio)

京都大学・医学研究科・講師

研究者番号：40335964

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：悪性骨腫瘍切除後欠損後、切除骨を殺細胞処理後再利用し再建される。本研究にてラット大腿骨処理骨モデルを確立させた。大腿骨骨幹中央部に10mm長骨を切除し、切除骨をパズール処理(60度30分間加温)または液体窒素処理し、Poly Ether Ether Ketone (PEEK)プレートとスクリューにて再固定した。悪性腫瘍切除として、周囲筋切除モデルを作成した。また、処理骨骨髓内にFGF2含有人工真皮(ペルナックG)挿入した。処理骨-ホスト骨の骨形成、骨癒合スコアは、筋切除群により低下した。処理骨は骨リモデリングが起きず、CT値が上昇し、FGF2投与群にて低下し、骨リモデリングが改善された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

悪性骨腫瘍切除後は処理骨のみでの再建は難しいと考えられている。処理骨ラットモデルの目標は、薬剤処理などの低侵襲による処理骨単独での再建である。悪性骨腫瘍切除に処理骨のみでの再建は低侵襲となり合併症も軽減できる。また、このポリエーテルエーテルケトン樹脂(Poly Ether Ether Ketone: PEEK)とスクリューにて再固定したラット大腿骨処理骨モデルは、処理骨骨髓内への薬剤注入を可能となる。FGF2は処理骨に対する骨リモデリング亢進させる可能性がある。また、このモデルは処理骨だけでなく、偽関節や感染モデルに応用できる。

研究成果の概要(英文)：After a malignant bone tumor is removed, the removed bone is treated with cell kill, recycled, and reconstructed. In this study, a rat femur treated bone model was established. A 10 mm long bone was excised in the mid-diaphysis of the femur, and the excised bone was pasteurized (heated at 60 degree for 30 minutes) or treated with liquid nitrogen and re-fixed with a Poly Ether Ether Ketone (PEEK) plate and screws. We created a muscular resection model for malignant tumor resection. FGF2-containing artificial dermis (Pelnac G) was inserted into the treated bone marrow. Bone formation and bone union scores of treated bone-host bone were lower in the myectomy group. Treated bone did not undergo bone remodeling, CT values increased, and FGF2-treated bone decreased, improving bone remodeling.

研究分野：整形外科

キーワード：処理骨 骨肉腫 ラット 液体窒素 パルツール

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

骨肉腫は若年者に好発する高悪性度骨腫瘍であり、日本国内で年間 150 例の発生と報告される(国立がんセンターホームページ)。骨肉腫は関節近傍に好発するため、切除後、腫瘍用人工関節により再建される。骨肉腫は、造骨性病変であり、罹患骨を切除し殺細胞処理後(処理骨)に再利用することも可能である。処理法には、パストゥール法(60 30 分間)や液体窒素凍結法が臨床使用され、これらの処理法は、骨形成タンパク質(Bone Morphogenetic Protein, BMP)が温存され骨再生が期待できると報告される(Takata M, et al. Cryobiology. 2011)。

処理骨単独再建では、長期での処理骨単独での骨吸収は避けられず、血管吻合技術による自家腓骨移植が使用されることが多い。血管吻合技術は高難易度であり、採取部の機能障害を残す事もある。そのため、処理骨のみでの再建が望まれる。

2. 研究の目的

処理骨単独での有用な報告はない。処理骨再建は臨床使用されているにも関わらず、効果改善を目的とする基礎研究がされていない。実臨床で施行可能な付加処置により、処理骨単独での再建を可能とする動物モデルを確立する。線維芽細胞増殖因子 2 (Fibroblast growth factor 2: FGF2, b-FGF) は多様な作用を持つ骨代謝調節因子で骨形成を促進する(Flamme I, et al. Development, 1992)。申請者は同論文にて FGF2 がパストゥール処理骨ラットモデルにても骨形成を促進することを報告した(Yoshida T, Sakamoto A, et al. J Orthop Surg Res. 2009)。

ゼラチンゲル溶解 FGF2 による局所徐放により FGF2 の局所効果が増強し大腿骨頭壊死治療に有用であると報告される(Kuroda Y, et al. Int Orthop. 2016)。パストゥール、凍結処理骨ラットモデル作成とともに初期実験としてゼラチンゲル溶解 FGF-2 を処理骨骨髓内に注入することにより処理骨の骨リモデリングを解析する。骨骨髓内への付加処置を可能となるラット骨外固定モデルを作成。臨床を想定とした筋切除モデルの作成し、FGF2 の処理骨への影響を確認する。

3. 研究の方法

Wistar ラットを麻酔下に大腿骨を露出させ、大腿骨遠位骨幹中央部に 10mm 長切除摘出する。切除骨をパストゥール処理(60 度 30 分間加温)または凍結処理(液体窒素使用)を行う(FWG COSTA, et al. J Appl Oral Sci 2011)。悪性腫瘍切除後モデルとして筋合併切除モデル腫瘍広範切除では処理骨周囲の筋組織も広範囲に切除を行う。FGF2 含有ペルナック G プラス(幅 4mm × 長さ 14mm)を徐放材として FGF2 溶液 10ul を処理骨内に充填、処理骨を処置後 4 週間、8 週間、12 週間にて評価する。レントゲン、マイクロ CT にて骨癒合の有無とともに、切骨部(処理骨-ホスト部)の骨形成、処理骨中央部の骨密度を測定した。評価はレントゲンとマイクロ CT を用いて、Lane らの基準(radiographic score)を改変(Lane JM, et al Orthop Clin North Am 1987)。各グループ 10-15 例にて評価した。

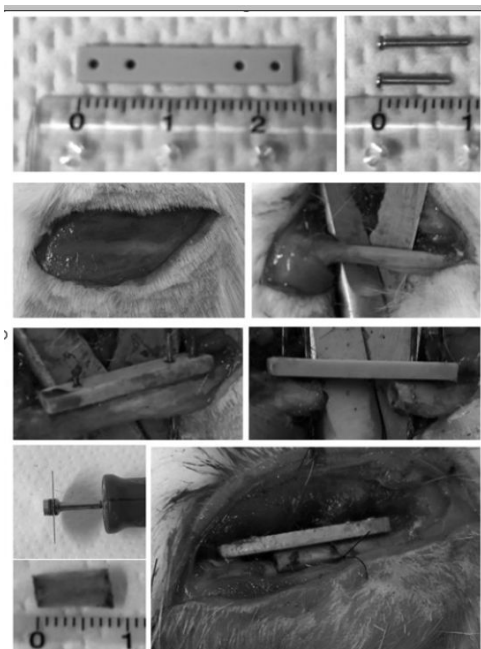


図 2 非筋切除(上)、筋切除(下)

図 1 PEEK 固定

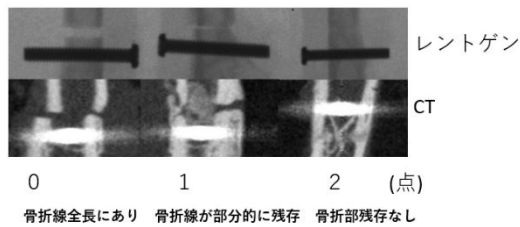


図3 骨癒合スコア

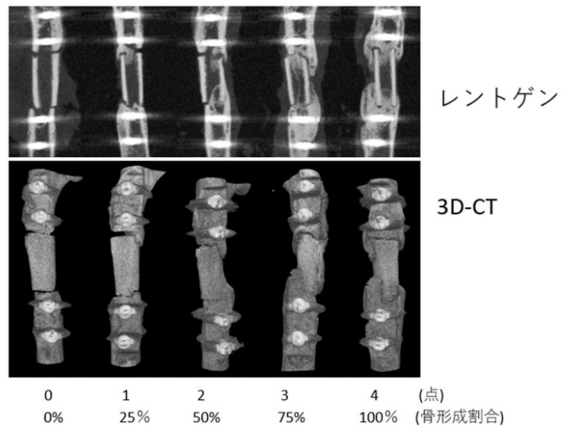


図4 骨形成スコア

4. 研究成果

ポリエーテルエーテルケトン樹脂 (Poly Ether Ether Ketone: PEEK) とスクリューにて再固定するラット大腿骨処理骨モデルを確立させた (図1)。処理骨を使用したラットでのプレート固定の報告はない。骨折モデルを使用したものとして創内固定では 8 週での破綻が多いと報告される (Drosse I, et al. Tissue Eng Part C Methods 2008)。今回両側でのプレート固定を行いある程度の荷重にも耐えられる強度をもつと思われる。このプレート固定技術は、骨感染モデルにも使用可能である (図1)。

悪性腫瘍切除後モデルとして筋切除モデルを作成した (図2)。切骨部 (処理骨-ホスト間) における骨形成量は、未処理骨、処理骨のいずれにおいても、非筋切除群の方が筋切除群より切骨部 (処理骨-ホスト間) の骨癒合スコア (図5) と骨形成スコア (図6) は高い。周囲筋は、骨癒合、形成骨を促進させる。切骨部 (処理骨-ホスト間) における、FGF2 の効果は、有意差は認められなかった。

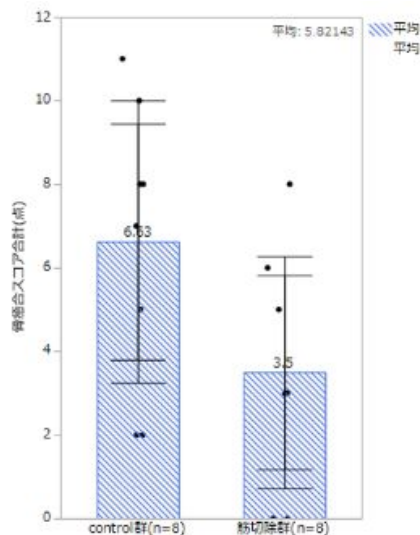


図5 骨癒合スコア

左:筋切除なし、右筋切除あり

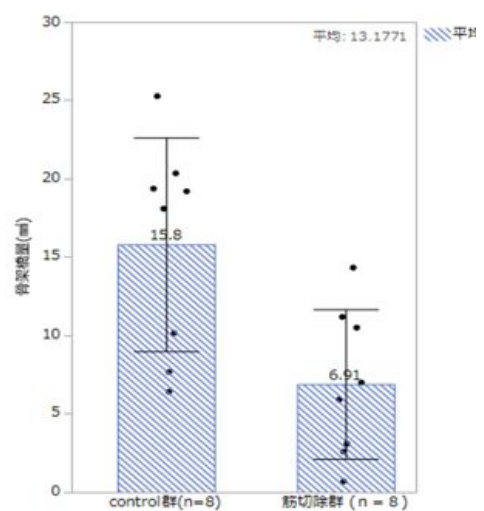


図6 骨形成スコア

左:筋切除なし、右筋切除あり

処理骨は非処理骨より CT 値が高く、処理骨は骨リモデリングが起きず、CT 値が上昇した可能性が考察された。処理骨は、筋切除群において、さらに骨密度が高くなる。処理骨への FGF の効果は、FGF の処理骨への効果:筋切除群において、FGF2 群と非 FGF2 群と比較すると、FGF2 群処理骨中央部にて CT 値が低く、FGF にて、骨リモデリングが改善された (図7)。

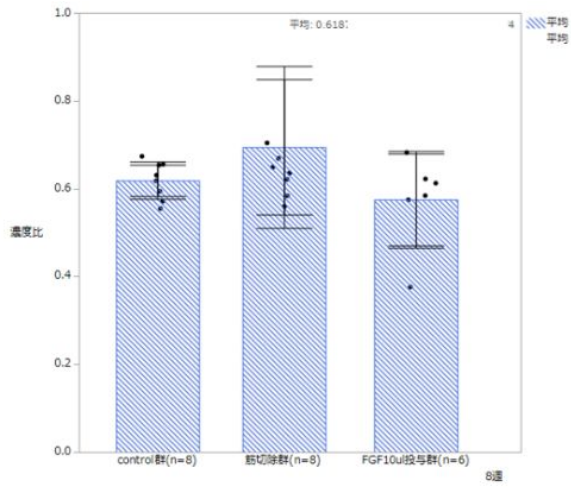


図7 処理骨骨密度スコア
 左:コントロール、中;筋切除、
 右: FGF 投与 (筋切除)

結語: 処理骨骨髓内への付加処置を可能となるラット創内固定モデルを作成。処理骨の筋切除合併モデルにて、切骨部 (処理骨-ホスト間) の骨癒合、骨形成の低下がみられた。FGF2 にて処理骨のリモデリングが促進される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

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

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
---------	---------