

令和 4 年 5 月 17 日現在

機関番号：32607

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K23008

研究課題名(和文)骨移動術による巨大骨欠損修復を加速する骨形成促進シースの開発

研究課題名(英文)Development of Bone Regeneration Methods for Segmental Bone Transport

研究代表者

田澤 諒 (Tazawa, Ryo)

北里大学・医学部・助教

研究者番号：30749883

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：重度外傷で生じる巨大骨欠損は極めて難治性であり、患者のQOL,ADLを著しく低下させる。現在、創外固定器を用いた骨移動術による治療が行われているが、治療期間は数カ月にも及ぶ。本研究では自然治癒不可能なマウス骨移動術モデルを用いて注入型局所硬化ゲル(IFHG)を用いたBMP-2徐放による骨移動術における骨形成促進シースの開発を行った。IFHG/BMP-2投与群では対照群に比して有意に新生骨量、骨塩量が多く、骨欠損部とdocking siteともに全例に骨癒合を認めた。本研究結果から注入型局所硬化ゲルとBMP-2の併用は骨移動術における骨形成促進に有用であると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果は患者のQOL、ADL向上と外傷患者の早期離床、早期社会復帰の実現に大いに貢献できるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to investigate whether a single injection of BMP-2-loaded in situ-formed hyaluronan gel (IFHG) accelerates consolidation at the bone defect site and bone union at the docking site in a mouse segmental bone transport (SBT) model. A critical sized bone defect was created in the femur of mice and subsequently reconstructed using SBT with an external fixator. Mice were divided into PBS 1.0 (bone segments moved 1.0 mm/day for 2 days) and BMP-2/IFHG (BMP-2/IFHG injected into the bone defect and segments moved 1.0 mm/day for 2 days). In PBS group, maturation of regenerative bone at the bone defect site was poor, with the central area between the proximal and distal bone composed mainly of masses of fibrous and adipose tissue. BMP-2/IFHG groups had higher bone volume and bone mineral content compared to PBS, and all mice achieved bone union at the bone defect and docking sites. BMP-2/IFHG combined with SBT may be effective for enhancing bone healing in large bone defects.

研究分野：整形外科

キーワード：骨移動術 骨形成促進剤 成長因子徐放担体

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、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

重度外傷で生じる巨大骨欠損は極めて難治性であり、患者の QOL,ADL を著しく低下させる。現在、創外固定器を用いた骨移動術による治療が行われているが、治療期間は数カ月にも及ぶ。また、移動骨片の接合部において高率に骨癒合不全を生じる。従って、早期社会復帰、QOL,ADL の向上を達成し得る骨形成促進法の開発は極めて重要である。

2. 研究の目的

本研究では注入型局所硬化ヒアルロン酸ゲルを用いた BMP-2 徐放による骨移動術における骨形成促進シーズの開発を行った。

3. 研究の方法

6 カ月齢雄性 C57BL/6J マウスの右大腿骨に骨移動可能なマウス専用創外固定器を装着し、大腿骨の近位側を骨切りして移動骨片と大腿骨中央に 2 mm の骨欠損を作製した。骨移動させない CONT 群、1 日 0.2 mm の移動速度で 10 日間骨移動させる 0.2 群、1 日 1.0 mm の移動速度で 2 日間骨移動させる 1.0 群、術中骨欠損部に BMP-2 含有局所硬化ヒアルロン酸ゲルを投与し、1.0 群と同様に 1 日 1.0 mm の移動速度で 2 日間骨移動させた (IFHG/BMP-2 群) を各 10 匹ずつ作製した。骨移動は術後 2 日目からおこなった。術後に軟 X 線撮影を行った。撮影条件は電圧 35 kV、電流 3.0 mA、撮影時間 10 秒とした。骨欠損修復過程を観察した。術後 8 週でマウスを屠殺し、術後 8 週でマウスを屠殺後、右大腿骨を摘出して 4%パラホルムアルデヒドを用いて 4°C の低温室で 48 時間固定をおこなった。その後、 μ CT 撮影をおこなった。撮影条件は管電圧 90 kV、管電流 100 μ A、ボクセルサイズ 30 \times 30 \times 30 μ m とした。骨欠損部の新生骨形成と docking site の骨癒合を評価した。骨癒合の定義は骨欠損部と docking site それぞれにおける矢状面と冠状面スライスで、前後左右 4 つの皮質骨のうち、連続性が 3 つ以上に認められるものとした。また、骨欠損部における新生骨の骨量および骨塩量を計測した。 μ CT を撮影して骨欠損部と docking site の骨癒合および、骨欠損部の新生骨の骨量、骨塩量を評価した。 μ CT 撮影後、パラフィン薄切切片を作製し、HE 染色で新生骨と docking site を評価した。統計学的検討は SPSS software (version 25.0; SPSS, Chicago, IL, USA) を使用して one-way ANOVA をおこない、事後検定として Tukey's post hoc comparisons test をもちいた。有意水準は $p < 0.05$ を有意差ありとした。

4. 研究成果

軟 X 線像で 0.2 群と IFHG/BMP-2 群の骨欠損部において術後 4 週で淡い新生骨形成を認め、術後 8 週で consolidation を認めた。一方で、CONT 群と 1.0 群の骨欠損部では新生骨形成は認めなかった。 μ CT 像でも同様に、術後 8 週において 0.2 群と 1.0/BMP-2 群では良好な新生骨形成を認める一方で、CONT 群と 1.0 群では新生骨形成は認めなかった。新生骨領域において、0.2 群は骨量、骨塩量ともに CONT 群と比較して有意に高値であり、骨癒合も 7/8 例に認めた。一方で 1.0 群は骨量、骨塩量ともに CONT 群と比較して有意差は認めず、骨癒合もわずか 2/8 例に認めるのみであった。docking site においては 0.2 群で 4/8 例、1.0 群で 3/8 例に骨癒合不全を認めた。一方で、IFHG/BMP-2 群は

骨量、骨塩量ともに CONT 群と 1.0 群と比較して有意に高値であり、骨欠損部と docking site とともに全例に骨癒合を認めた。HE 染色像で新生骨領域において 0.2 群と IFHG/BMP-2 群では骨梁の形成と骨皮質の連続性を認めた。一方で CONT 群と 1.0 群では線維性組織や脂肪組織が形成され、骨皮質の連続性は認めなかった。docking site においては、1.0/BMP-2 群では骨皮質の連続性を認める一方で、0.2 群と 1.0 群では線維軟骨組織の存在を認め、骨皮質の連続性は認めなかった。

骨移動速度と新生骨形成について、イヌ骨移動術における最適な骨移動速度は 1 日 1.0 mm で、1 日 0.5 mm の移動速度では新生骨形成は未熟であり、より早い 1 日 2.0 mm では線維性組織のみ形成されたという報告がある。またヒトにおいても骨移動に長期を要すると骨片端に線維軟骨組織が形成され、docking site の骨癒合不全を生じることや、骨癒合不全は 17% に生じるといった報告がある。本マウス研究でも骨移動速度の最適化により骨欠損部に良好な新生骨形成を認めた一方で、骨移動わずか 2 日間で docking させ単純骨折の条件に近づけた群でも docking site では高率に骨癒合不全を認めた。このことから docking site の骨癒合は骨移動速度の最適化のみで解決できない可能性が示唆された。

米国では BMP-2 は臨床応用されており、脛骨開放骨折の骨癒合率を上昇させることや、脊椎手術において自家骨移植よりも良好な骨癒合率であると報告されている。本研究でも骨移動術に BMP-2 含有 IFHG の単回投与を併用することで、より早く骨移動を完了させた場合でも骨欠損部と docking site とともに良好な骨癒合を得ることができた。本方法は巨大骨欠損治療において治療期間を短縮し、かつ骨癒合を促進させ有用である可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Shoji S, Uchida K, Tazawa R, Saito W, Kuroda A, Sekiguchi H, Ishii D, Inoue S, Inoue G, Takaso M	4. 巻 -
2. 論文標題 Acceleration of bone formation using in situ-formed hyaluronan-hydrogel containing bone morphogenetic protein-2 in a mouse critical size bone defect model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bio-Med Mater Eng	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3233/BME-201172	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
---------------------------	-----------------------	----

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