

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09252

研究課題名（和文）有痛性偽関節の病態解明と治療標的の探索

研究課題名（英文）Pathomechanism of painful fracture nonunion

研究代表者

池内 昌彦（Ikeuchi, Masahiko）

高知大学・教育研究部医療学系臨床医学部門・教授

研究者番号：00372730

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,900,000円

研究成果の概要（和文）：偽関節の疼痛発生機序解明に不可欠な偽関節モデルを新たに作成した。偽関節モデルの疼痛行動を観察すると、固定部の不安定性の大小によって疼痛行動に明らかな差を認めた。また、骨折部（大腿骨骨幹部）を支配しているL3DRGでCGRP陽性細胞が増加傾向にあり疼痛との関連性が示唆された。本研究で作成できた偽関節モデルを用いて偽関節部の不安定性による神経生物学的変化をさらに解明し、新たな創薬や治療法の開発につなげることが期待できる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

社会の高齢化とともに骨折後の偽関節患者は増加の一途をたどっており、臨床の現場では、有痛性であっても偽関節手術を行えない虚弱な高齢者の存在が切実な問題となっている。有痛性偽関節の疼痛発生機序を解明できれば、手術に代わる新たな治療法の開発につながる。

研究成果の概要（英文）：We established a novel rat model of nonunion fracture with different stability. Dynamic weight bearing test showed that fracture site stability greatly affected the pain behavior. CGRP positive neurons were upregulated in the L3 DRG in this model, which partially explains the pathomechanism of painful fracture nonunion.

研究分野：運動器疼痛

キーワード：偽関節 骨折 疼痛

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

高齢者にみられる脆弱性骨折はしばしば骨癒合せず偽関節に発展する。偽関節には有痛性で手術を要するものと無症候性で治療を要しないものの2種類が存在するが、その病態の違いは不明である。社会の高齢化とともに偽関節患者は増加の一途をたどっており、臨床の現場では、有痛性であっても偽関節手術を行えない虚弱な高齢者の存在が切実な問題となっている。われわれは、将来的に高齢者においても安全で有効な有痛性偽関節に対する新しい治療法の開発を目指している。今回、その第一歩として有痛性偽関節と無症候性偽関節の病態の違いを動物実験によって明らかにする基礎研究を行った。本研究では、まず独自に偽関節モデルを作成した。次にこの偽関節モデルを内固定器具の固定性の違いによって段階的に不安定にし、疼痛の行動学的評価および偽関節癒痕部の神経支配や脊髄後根神経節細胞の疼痛マーカー発現に関する免疫組織学的評価を行い、有痛性となる偽関節モデルの特徴を明らかにした。

### 2. 研究の目的

わが国は高齢化の一途であり、有痛性偽関節を有する超高齢者は今後ますます増加することが予測されている。われわれは将来的に、超高齢者においても安全で有効な有痛性偽関節に対する新しい治療法の開発を目指している。本研究では、その基盤となるべく偽関節の疼痛発生機序を解明することを目的とした基礎研究を行う。本研究によって偽関節モデルが確立し、その疼痛発生機序が解明できれば、将来的に創薬や新規治療法の開発につながるものと期待できる。超高齢者の健康寿命延伸に資する研究であり大きな意義をもつと考えている。

### 3. 研究の方法

#### 1) 偽関節モデルの確立

12週齢SDラットの大腿骨骨幹部中央部分に鋸刃で骨折をつくる。その後、骨折部を内固定し、骨折部の間隙にラバーシートを挿入し骨癒合を妨げて偽関節モデルとした。次に内固定の固定力の違いによって不安定性大群と不安定性小群を作成した。糸や鋼線、スクリュー、プレートなど各種内固定材を用いて骨折部の安定性をX線学的に検討し、内固定後8週間破綻しない程度の固定力を有する2種類の固定方法(不安定性大群と不安定性小群)を決定した。

#### 2) 骨折部の固定性評価

上記1.で決定した2種類の内固定を行った術直後の大腿骨を摘出して3点曲げ試験を行った。内固定された骨折部の剛性(stiffness)をたわみ量で評価した。

#### 3) 疼痛行動評価

偽関節の有無及び内固定部不安定性の大小で4群設定し、これにシャム手術群を加えた計5群を作成した。術後8週まで2週ごとにDynamic weight bearing 評価機器を用いて5分間歩行時の後肢の荷重患健比を測定した。

#### 4) 免疫組織学的評価

術後 8 週目に L3 脊髄後根神経節 (DRG) を採取し、免疫染色にて疼痛関連分子 (CGRP、TRPV1) の陽性細胞数をカウントした。

#### 4. 研究成果

##### 1) 偽関節モデルの確立

不安定性大モデルでは当初スクリュー2本固定、スクリュー2本と縫合糸締結固定、プレートとスクリュー2本固定などを作成したが、いずれも不安定性が強く早期に破綻した。プレートとスクリュー4本 (バイコーティカルスクリュー2本 + ユニコーティカルスクリュー2本) のモデルでは術後 8 週間破綻することなかった。この結果から、バイコーティカルスクリュー4本固定を不安定性小群、バイコーティカルスクリュー2本 + ユニコーティカルスクリュー2本固定を不安定性大群としたモデルを採用した (図 1)。さらに、偽関節モデルにおけるスクリューの緩みが散見されたため、最終的にスクリュー径を 1.1mm から 1.3mm に変更した。

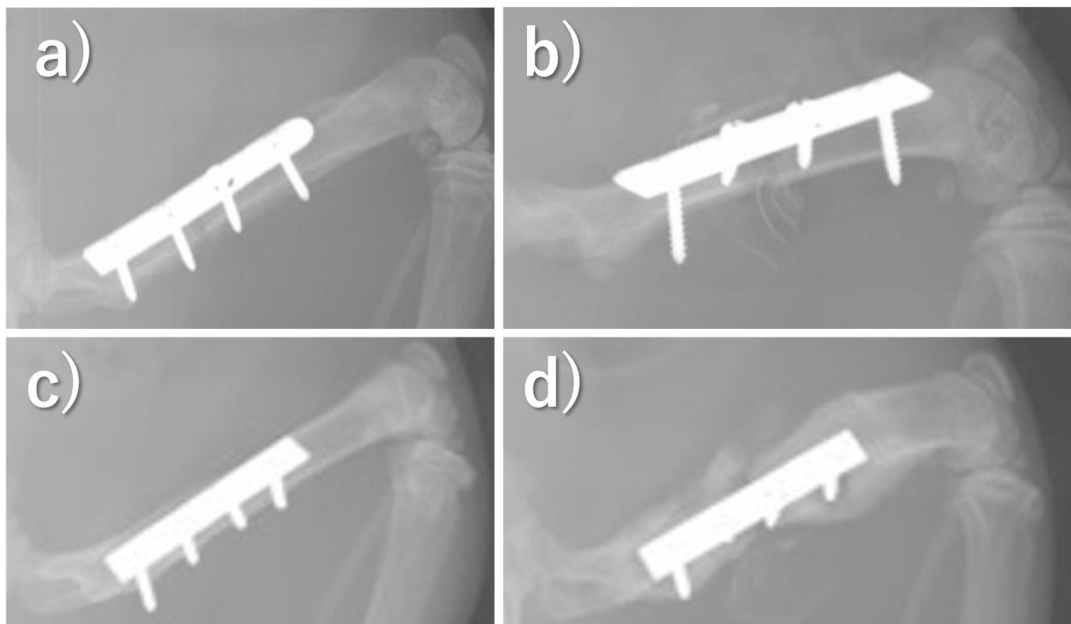


図 1: 骨折部の単純 X 線像 a) 不安定性小群 (術直後) b) 不安定性大群 (術直後)  
c) 不安定性小・骨癒合群 (術後 8 週) d) 不安定性小・偽関節群 (術後 8 週)

##### 2) 骨折部の固定性評価

骨折部の固定性評価のために 3 点曲げ試験を行ったところ、不安定性小群 (4B) は不安定性大群 (2B2U) と比較して骨折固定部の剛性は有意に高かった (図 2)。

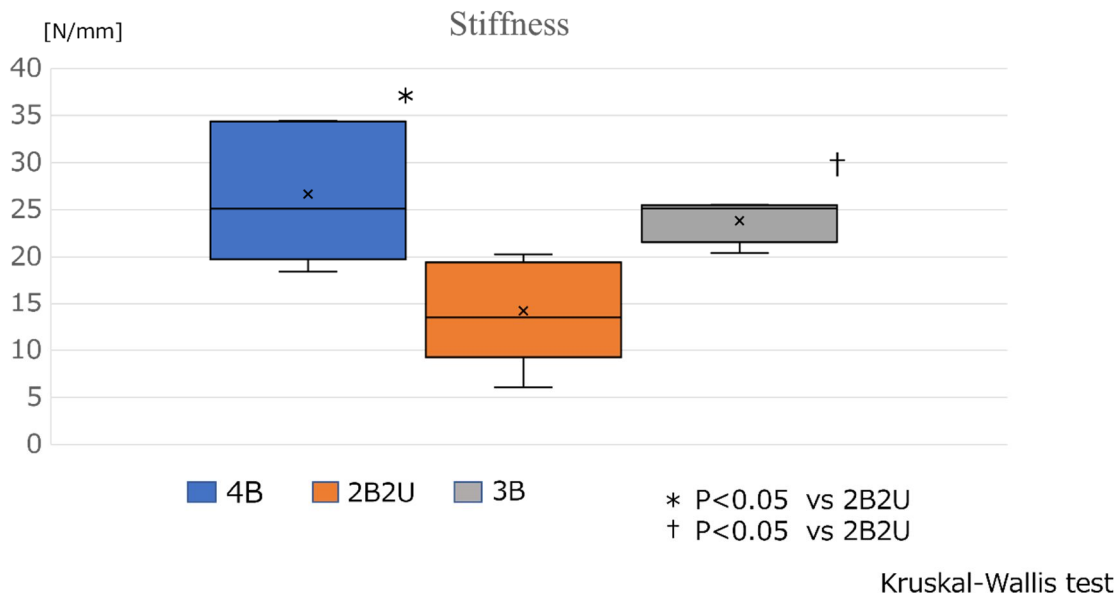


図 2 : 3 点曲げ試験の結果

4B : 不安定性小群、2B2U : 不安定性大群、3B 不安定性中間群 (各 5 例)

### 3) 疼痛行動評価

不安定性小・骨癒合群 (4B-U)、不安定性小・偽関節群 (4B-N)、不安定性大・骨癒合群 (2B2U-U)、不安定性大・偽関節群 (2B2U-N) およびシャム群の 4 群間で疼痛行動評価をした結果、骨癒合群 (4B-U、2B2U-U) では固定性の違いによる疼痛行動の差はほぼなかったのに対し、偽関節群 (4B-N、2B2U-N) では固定部の不安定性が大きいと有意に疼痛行動が悪化 (荷重患健比の低下) していた。

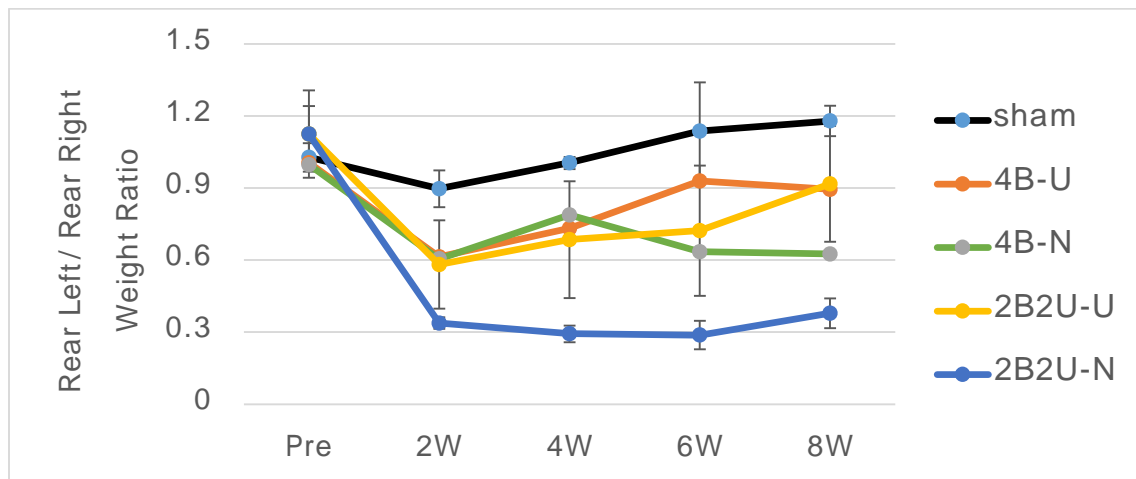


図 3 : 疼痛行動評価の結果 (後肢の荷重患健比)

4B-U : 不安定性小骨癒合モデル、4B-N : 不安定性小偽関節モデル

2B2U-U: 不安定性大骨癒合モデル、2B2U-N: 不安定性大偽関節モデル

### 4) 免疫組織学的評価

DRG における CGRP 免疫染色を行った結果、偽関節群において CGRP 陽性細胞数が増加傾向にあることを確認した。

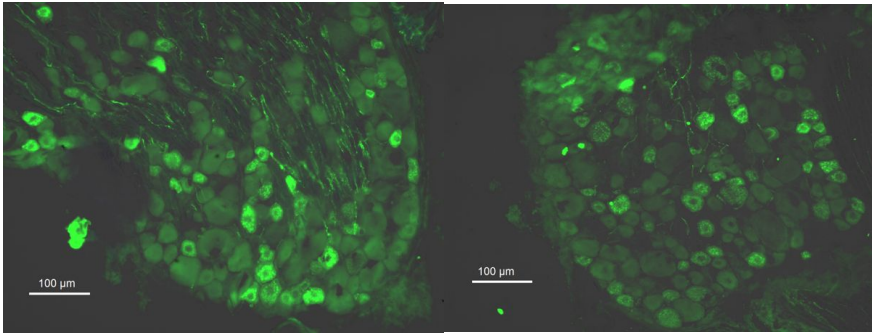


図4：偽関節群のDRGにおけるCGRP陽性細胞

今回の研究では、偽関節の疼痛発生機序解明に不可欠な偽関節モデルを新たに作成した。偽関節モデルの疼痛行動を観察すると、固定部の不安定性の大小によって疼痛行動に明らかな差を認めた。また、骨折部（大腿骨骨幹部）を支配しているL3DRGでCGRP陽性細胞が増加傾向にあり疼痛との関連性が示唆された。本研究で作成できた偽関節モデルを用いて偽関節部の不安定性による神経生物学的変化をさらに解明し、新たな創薬や治療法の開発につなげることが期待できる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Mizobuchi S, Aso K, Izumi M, Ikeuchi M
2. 発表標題 A novel rat model for nonunion fracture with different mechanical stability
3. 学会等名 Orthopaedic Research Society 2024 annual meeting (国際学会)
4. 発表年 2024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
---------------------------	-----------------------	----

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