

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 13 日現在

機関番号：24303

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26861202

研究課題名(和文) 成長軟骨板損傷に対するMRIを用いた画像評価法と成長軟骨再生医療の開発

研究課題名(英文) Image evaluation method using MRI for growth cartilage plate injury and development of growth plate regeneration medicine

研究代表者

岡 佳伸(Oka, Yoshinobu)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：80719865

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：5週齢日本白色家兔を用い、右脛骨近位の成長軟骨板に対して、3.0mm・1.2mmのドリルを用いて中央部に損傷を加えた。検討項目はMR画像(プロトン強調画像)における横断像での損傷面積の比率、矢状断像での非損傷領域での成長軟骨板、組織学的な成長軟骨板高とし患健側の比較を行った。また12週におけるマイクロCT像での骨性架橋形成の有無の確認を行った。

矢状面での成長軟骨板高は3.0mm群で10週、1.2mm群で12週で健側と比較して低下を認めた。組織像でも同様の週数で軟骨細胞の柱状構造の乱れを認めた。成長軟骨板の微小な損傷であってもMR画像を用いてその早期変化の検出が可能であることが示された。

研究成果の概要(英文)：5-week-old male Japanese white rabbits were used. Injuries were made to the right tibial proximal growth plate central region with a 3.0-mm and a 1.2-mm drill.

The examination items are the ratio of the damaged area in the transverse image in the MR image (proton-enhanced image), the height of the growth plate in the non-injured area in the sagittal images, the histological growth plate height was taken. We conducted a comparison on the left (normal) side.

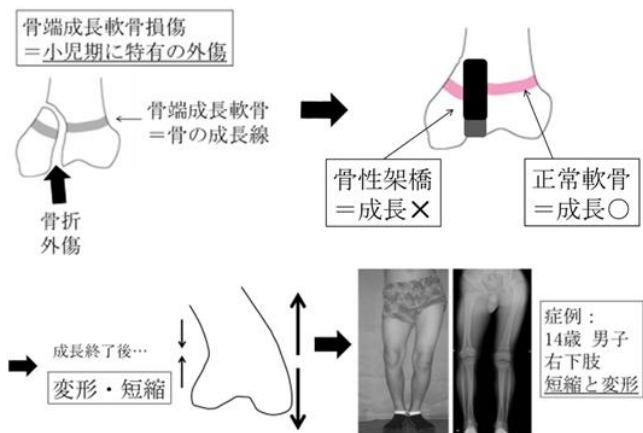
Growth plate height was lower in the 10-week group in the 3.0 mm group and 12 weeks in the 1.2 mm group than in the control. Histologically, the same number of weeks showed disturbance of the columnar structure of chondrocytes. It was shown that even early changes of the growth plate can be detected by using MR images.

研究分野：小児整形外科領域

キーワード：成長軟骨板 MRI 早期閉鎖 プロトン強調画像 骨性架橋

1. 研究開始当初の背景

小児の外傷では、小児独特の骨構造から関節近傍に存在する骨端成長軟骨損傷はよく遭遇する。損傷そのものの外力、あるいは手術などの介入により、骨端成長軟骨に骨性架橋形成による早期閉鎖を生じ、後に四肢の脚長差や変形を生じることがある。このような障害を残したままにすると、軟骨障害をきたして成長期に早期の変形性関節症や代償性の側弯症、脊椎症性変化等を発症し、日常生活に多大な支障を来す。今日まで、骨端成長軟骨損傷に対する治療として、矯正骨切り術、創外固定器による脚延長、変形矯正などを要し、長期に渡る治療期間が必要とされ、まだ小児である患者の就学や身体的、精神的負担だけでなく、家族の社会的、経済的負担も大きい。



これまでわれわれのグループでは、地域における骨端成長軟骨損傷の疫学について研究を行ってきた (Kawamoto, J Pediatr Orthop B, 2006). また、骨端成長軟骨分野での基礎研究において、動物実験モデルを用いて、その形態学的特徴と物理的強度の特徴についての数多くの先進的な研究を行い、臨床においても、骨性架橋切除術後の骨蠟パッキングによる良好な成績を報告してきた (Yoshida, J Orthop Trauma, 2008).

2. 研究の目的

今回われわれは、動物実験により、超早期の損傷部骨性架橋の画像の特徴を示すことと、成長軟骨欠損部に対する再生医療の可能性を示すことで、これまでの研究を土台にして、骨端成長軟骨の早期閉鎖を生じる画像によるメカニズム解明と再生医療の可能性を追求することを目的とした。

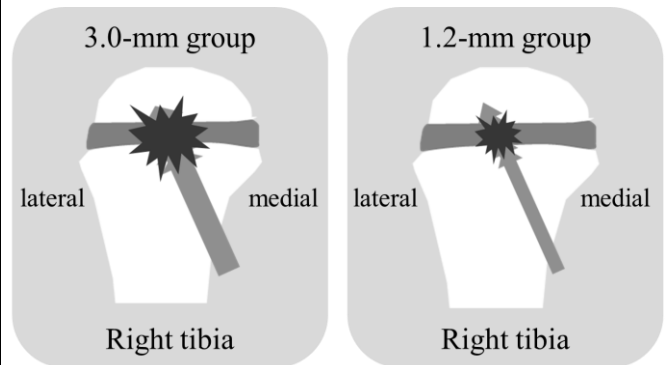
当院では、他機関ではほとんど導入されていない 7.0 テスラという実験用高磁場 MR 画像装置を用いて比較的大型の実験動物 (ウサギ、イヌなど) の MR 画像を撮像することが可能である。これは、同一個体を生きたまま経時的に撮像することが可能で、既存の MR 画像装置に比較し、動物愛護的にも非常に有益である。これにより、超早期の骨性架橋形成の画像によるメカニズム解明と、早期治療介入が必要となる画像的指標を示すことが可

能となると考えた。さらに、この成果は成長終了後に変形や下肢長差を残さないための治療介入方針決定の手助けとなる。これまで骨端成長軟骨損傷や手術後に四肢の変形や脚長差が出現するまで経過観察され、後に創外固定器およびプレートや髓内釘等の内固定材料で長期間の治療を余儀なくされていた患者に、早期に低侵襲の手術療法による介入で骨性架橋により生じる障害を未然に防ぐことが期待できる。

3. 研究の方法

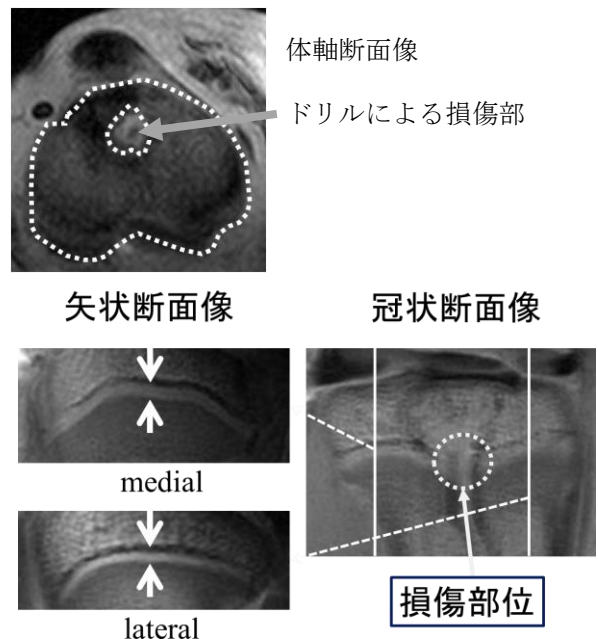
ドリリングによる骨端成長軟骨損傷の高磁場 MRI による超早期像の評価

・5 週齢の日本白色家兔 32 匹の右脛骨近位内側から 1.2mm と 3mm のドリリングを行い、脛骨近位骨端成長軟骨正中部を遠位内側から近位外側へ向けて完全に貫通させる。コントロール群は反対側の脛骨とした。



・ドリリング後 1, 2, 4, 8, 10, 12 週後に両下肢全長の両膝関節の MR 画像撮像を行った。MR 画像は FSE (fast spin echo 法) でのプロトン密度強調像, T2 強調像と, GRE (gradient recalled echo 法) でのプロトン密度強調像を撮像した。

プロトン強調画像を用いて、体軸断面像での成長軟骨板の損傷領域の割合および、矢状断面像での内外側それぞれの非損傷領域の成長軟骨板の高さを測定した。



・2例ずつ1, 2, 4, 8, 10, 12週後に安楽死させ、脛骨の実測長を計測した後、組織切片を作成し、ヘマトキシリン-エオジン (HE) 染色とサフラニンO染色を行い、光学顕微鏡による観察を行った。

・12週後に各群から8例ずつ安楽死させ、近位脛骨のμCT像を撮像し、骨性架橋の有無を確認した。

#### 4. 研究成果

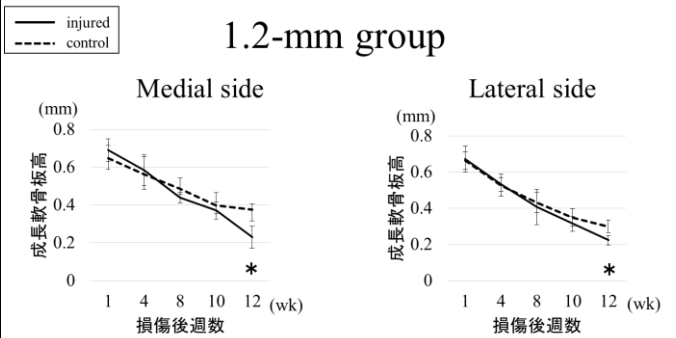
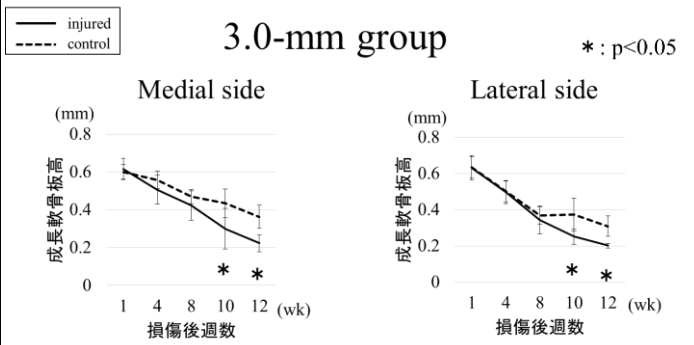
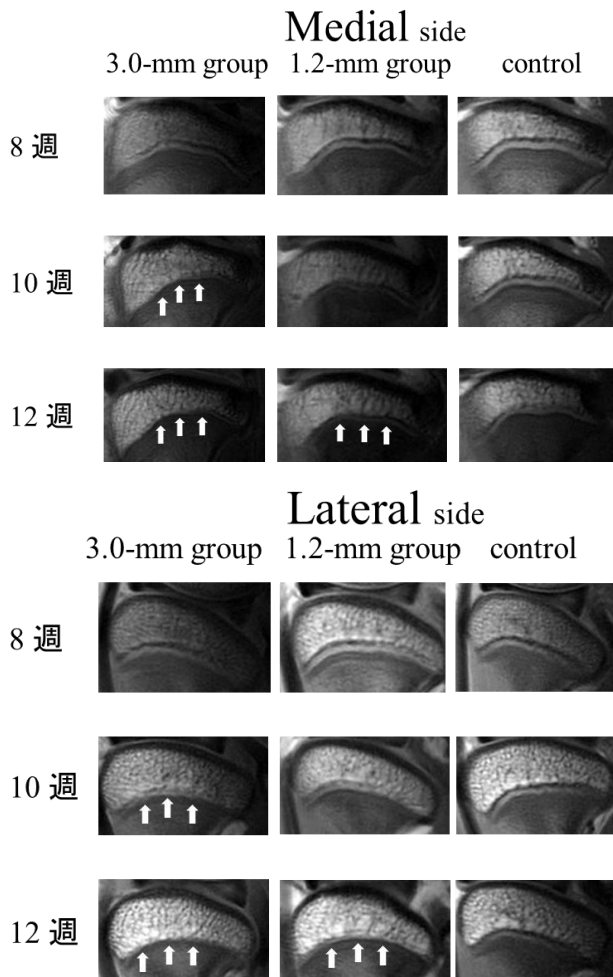
##### (1) MR 画像

###### ①体軸断像での損傷面積

3.0mm 群では成長軟骨板全体の  $4.61 \pm 0.86\%$ 、1.2mm 群では  $2.31 \pm 0.80\%$  の損傷を認めた。

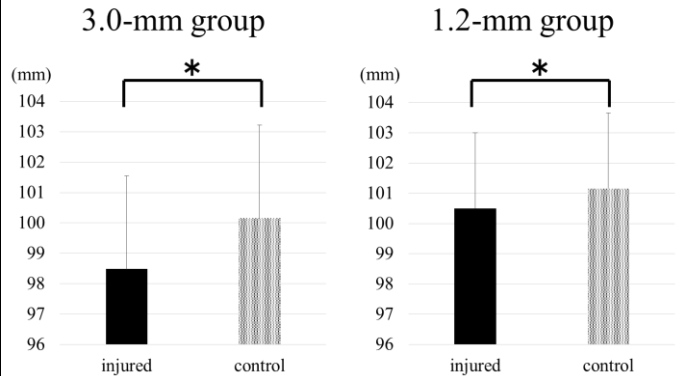
###### ②矢状断像での非損傷領域の成長軟骨板高

3.0mm 群では術後 10 週および 12 週で、1.2mm 群では術後 12 週で対照群と比較して日損傷領域での成長軟骨板高の減少を認めた(下図、下表)



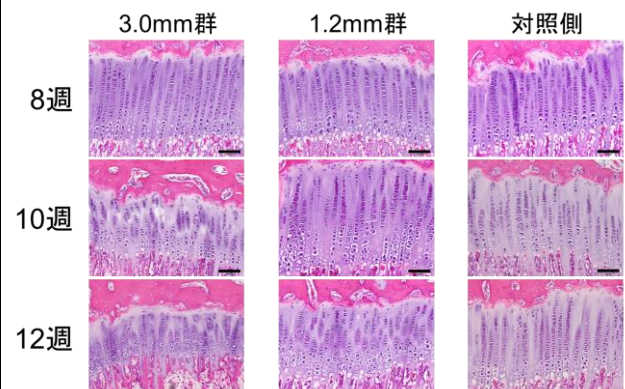
##### (2)脛骨長

3.0mm 群、1.2mm 群ともに損傷後 12 週の脛骨長は対照群と比較して減少を認めた。



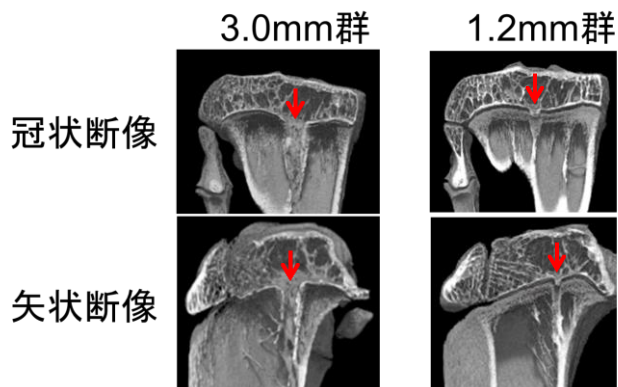
##### (3)組織所見

組織学的には 3.0mm 群で損傷後 10 週から損傷側の成長軟骨板柱状構造の不整と短縮が生じた。1.2 mm 群では 12 週から損傷側の成長軟骨板柱状構造の不整と短縮が生じた。



#### (4) $\mu$ CT 像

$\mu$ CT 像では 3.0 mm 群の全個体の損傷部に骨性架橋が生じた。1.2 mm 群の 8 個体中 5 個体の損傷部に骨性架橋が生じ、残りの 3 個体では骨性架橋を認めなかった。



本研究の結果、MR 画像での成長軟骨板高の低下開始時期と組織像での成長軟骨板の柱状構造の不整と短縮が生じる時期が一致した。この結果、成長軟骨板損傷後の成長抑制開始時期については、成長軟骨板の損傷面積が大きいほど、成長抑制が早期に開始することが示された。

また成長抑制と成長軟骨板の損傷面積の関係については、家兎の脛骨近位部では 4% 以下の損傷では成長抑制が生じないとする過去の報告がある。しかし本研究ではより小さな 2.3% での損傷でも、成長抑制が生じた。この結果は、微小な損傷でも、成長軟骨板の成長抑制を生じさせる可能性を示す。

成長軟骨板損傷を伴う骨傷などにおいて、経時的に MRI 撮像を行うことで、成長抑制開始の早期診断および治療介入を行うことが可能となると考える。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

①岡佳伸, 骨端線損傷の疫学調査, 整形外科スポーツ医学会会誌, 査読有, vol. 36(1), 2016, pp. 4-7

②金 郁喆, 骨端軟骨の成長制御, 日整会誌, 査読無, vol. 90(2), 2016, pp. S451

③中瀬雅司, 金 郁喆, 岡佳伸, MRI を用いた成長軟骨板損傷後の早期変化の検出, 日整会誌, 査読無, vol. 89, 2015, pp. 1596

④中瀬雅司, 金 郁喆, 岡佳伸, Detection of early change after growth plate injury using MRI, J Magn Reson Imaging, 査読有, vol. 42, 2015, pp. 1698-1704

[学会発表] (計 4 件)

①中瀬雅司, 金 郁喆, 岡佳伸, Detection of early change after growth plate injury using MRI, 2016 ORS annual meeting, 2016 年 3 月 5 日-3 月 8 日, Florida, アメリカ合衆国

②中瀬雅司, 金 郁喆, 岡佳伸, Detection of early change after growth plate injury, 第 120 回日本解剖学会総会・全国学術集会, 2015 年 3 月 21 日-3 月 23 日, 神戸市

③中瀬雅司, Early detection of growth plate change using MRI images after growth plate injury, 2015 ORS annual meeting, 2015 年 3 月 28 日-3 月 31 日, Las Vegas, アメリカ合衆国

④中瀬雅司, 金 郁喆, 岡佳伸, MR 画像を用いた成長軟骨板損傷後の成長障害の検討, 第 29 回日本整形外科学会基礎学術集会, 2014 年 10 月 9 日-10 月 10 日, 鹿児島市

[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) 研究代表者

岡 佳伸 (Oka Yoshinobu)  
京都府立医科大学大学院医学研究科  
運動器機能再生外科学  
(整形外科学教室) 講師  
研究者番号: 80719865

(2) 研究協力者

金 郁ちよる (Kim Wook-Cheol)  
京都府立医科大学大学院医学研究科  
運動器機能再生外科学  
(整形外科学教室) 特任教授  
研究者番号: 50244603