

骨折癒合不全に対する組織工学 (Tissue Engineering) 手法の臨床応用

岸上 義弘^{1,2}, 伊波 浩樹¹, 大東 勇介¹, 小倉 政光¹, 長村 徹¹
見目 香織¹, 小林 勇人¹, 佐藤 美幸¹, 玉岡 尚子¹, 古田 真介¹
吉田 明弘¹, 清水 慶彦², 中村 達雄², 田畑 泰彦²

¹岸上獣医科病院・大阪市, ²京都大学・再生医科学研究所

1. はじめに: 人の医学領域において, 生体の持つ自己治癒能力を高め, 障害を受けた組織を再生する組織工学 (Tissue Engineering) つまり再生医療が盛んになりつつある。演者らは, 今回とくに犬の骨折の癒合不全に対して組織工学的手法の臨床応用を実施し, その有用性を検討した。

2. 症例および方法: 犬12頭 (雄7頭 雌5頭), 平均4.6歳。いずれも他院での複数回の骨折手術後に癒合不全を認め, すでに数ヶ月が経過し骨吸収を起こし, 骨折治癒システムが完全に終了した症例。

方法は2つのうち1つを選択した。ひとつは, 遺伝子組み換えサイトカイン b-FGF (線維芽細胞増殖因子) とその徐放システム (ゼラチンハイドロゲル) の使用。もう一つは, 患者の自己幹細胞を採取して培養増殖し, 血小板に富む自己血漿とともに骨折部に入れることであった。

幹細胞培養のため, 当院での手術の1週間前に塩酸ケタミンにて麻酔し, 上腕骨近位の骨皮質を穿孔し, 骨髓液を採取した。当院細胞培養室のクリーンベンチと CO₂ インキュベーターを用いて幹細胞を培養増殖した。培養液は Dulbecco's Modified Eagle Medium を使用した。手術として, a. イソフルレン麻酔 b. 骨折部展開 c. 骨折部に存在する壊死・結合組織を除去。近位骨髓と遠位骨髓を連絡させた。d. 創外固定法にて整復固定した。e. 骨折部に, あらかじめ培養増殖した自己幹細胞を注入。f. 手術途中に患者自身の血液を 5~10 ml 採取。これを 1800 rpm

にて10分間遠心沈殿。血小板に富む血漿 [PRP: platelet rich plasma] を採取し, 骨折部に注入した。

3. 成績と結論: いずれの症例においても, 骨折部とその周辺に X 線画像上明らかな仮骨が生成され, 骨折部間隙に骨組織が新生し, 結果として確実な骨癒合を果たした。歩行・走行とも正常に復した。創外固定ピンを除去するまでの期間は平均82日であった。骨吸収が起こっていた症例においても, 明らかな画像上の骨密度の回復を認めた。さらには, 骨折部の角状変形を治癒させようというリモデリングを認めたものもあった。

4. 考察: 自己海綿骨移植という方法は, 骨折部の生物学的要素を補助するという目的では同種皮質骨移植よりも優れている。海綿骨には幹細胞, 造血幹細胞, ストローマ細胞, 骨芽細胞, 血小板, サイトカインなども含まれている。確かに骨を形成するためには, 幹細胞は絶対に必要不可欠なものである。ただし骨髓細胞10万個のなかに幹細胞1個という数は非常に少なく, 移植した細胞群がそのまま生着し, 生存し続けるかどうかは, 母床の悪条件から考えて楽観視できない。これらの方法に比較して, 今回の方法は幹細胞を in Vitro で培養増殖してから生体内に戻したり, in Vivo で幹細胞を増殖し新生血管を作り出す作用をする b-FGF とそれを徐放する DDS を用いた。時期的には治癒過程が完全に収束してしまった骨折部において, 骨吸収からの回復と仮骨の有意な増加を認めた。おそらく, このサイトカイン b-FGF

あるいは血小板のサイトカインそして幹細胞が引き金となって、骨癒合に必要な生物学的要素が増幅され、骨形成能が促進され、結果として骨再生が起こったと推察した。

5. 結語：組織工学的手法を用いることによって、複数回の手術に失敗し長期経過した骨折癒合不全に

対し、骨吸収から回復させたり、もう一度生理的骨癒合を開始させることができるという可能性を示しており、骨折治療法に新たな展開を示すものと思われる。当技術は、イヌにおける実際の臨床例への世界初の応用である。