

濃縮自家骨髄血移植術の手術手技移植骨髄血の組成に関する検討

都丸 洋平、熊谷 洋、清水 如代、青戸 克哉、和田 大志、赤荻 博、落合 直之、山崎 正志、三島 初
(筑波大学医学医療系 整形外科)
吉岡 友和、菅谷 久
(筑波大学医学医療系 整形外科 運動器再生医療学)

筑波大学では2003年より大腿骨頭壊死症に対して濃縮自家骨髄血移植術を行ってきた。

これまでに行ってきた濃縮自家骨髄血移植に関して、手技の変遷、含有する細胞や成分に関する検討について報告する。両腸骨稜からおよそ400mlの骨髄血を採取し、2回遠心分離を行い10倍程度に濃縮したBuffy Coat層を抽出する。Buffy Coat層には間葉系幹細胞の他に、b-FGF, PDGF-BB, VEGF, TGF- β 1, BMP-2などの種々の成長因子が含まれる。中空の直径4.8mmのドリルでcore decompression、直径2.4mmのguide pinを用いてmultiple drillingを行ったのちに直径3.8mmの注入棒を介して壊死部に圧入する事で移植を行う。ゲル化や、人工骨などのscaffoldは用いていない。

1. 研究目的

濃縮自家骨髄血移植術の術式に関して報告すること。骨髄血組成(MSC,成長因子)に関して報告すること。

2. 研究方法

2003年から2019年11月に311例、484関節に対して濃縮自家骨髄血移植術を行った症例に関して、その術式、後療法、合併症に関して調査した。

2015年1月から2015年6月に10例(男性8 女性2)を対象とし、採取骨髄血量、骨髄血中の間葉系幹細胞数、成長因子を調査した。平均年齢:40歳(28-59)、ステロイド関連8例、アルコール関連:2例だった。間葉系幹細胞はCFU-F、FACS(CD31-45-90+105+)、成長因子はELISA法を用いて評価した。

3. 研究結果

2003年から2012年までは4.8mmのドリルを用いてcore decompressionを行い、paracrine効果を狙い、2.4mm K-wireを用いてmultiple drillingを行った。2013年からは3.8mmのドリルを用いた。両腸骨翼から採取した骨髄血を2回遠心分離することによりBuffy coat層を抽出した。濃縮には遠心分離器と、血

液バッグを用いた。先端に4方向に孔が空いた中空の注入棒を用いて壊死層へ骨髄血を圧入した。手術時間は2時間30分程度で、手術は小皮切で行い、出血量は少量だった。術後合併症として表層感染1例、転子下骨折2例認めた。腫瘍形成はなかった。

濃縮後の骨髄血中の有核細胞数: $4.3 \times 10^4 / \mu\text{l}$ 、CD31-45-90+105+細胞の割合:0.030%、CFU-F: $4.62/10^6$ nucleated cells だった。成長因子に関してb-FGF: $6.78 \pm 5.87 \times 10^1$ 、PDGF-BB: $5.28 \pm 2.57 \times 10^3$ 、VEGF: $1.76 \pm 1.18 \times 10^6$ 、TGF- β 1: $1.56 \pm 1.33 \times 10^4$ 、BMP-2: $9.99 \pm 0.59 \times 10^1$ pg/ml だった。

4. 考察

大腿骨頭壊死に対する骨髄血移植に関する報告は多数あり、自然経過、core decompression 単独と比較して良好な成績が報告されている。濃縮方法は様々であり、本報告では遠心分器と血液バッグを用いた。Hernigou Pはcell separator, Matthew TはBioCue, Zhaoは体外in vitroでの間葉系幹細胞培養を用いてそれぞれCFU-Fは $12/10^6$ nucleated cells, $19/10^6$ nucleated cells, 2×10^6 MSC だったとそれぞれ報告しており、本報告よりも高い傾向があった。本手法は簡便・低コストで、一期的に行えるという利点がある。

成長因子は、Kuroda Y らは rhFGF の含有量は 8×10^8 pg/ml と報告しており本研究よりも多かった。本手法では FGF のみならず種々の成長因子が含まれるという利点がある。本研究の限界点として、後ろ向き研究で対称群が無いことが挙げられる。

5. 結論

手術方法、骨髄血組成について報告した。本術式は一期的に行い、MSC 以外にも種々の成長因子が含まれることが特徴だった。今後は濃縮方法の変更 (cell separator, BioCue など)、骨髄血の留まり機械的強度の改善のため、人工骨との組み合わせを検討していく。

6. 研究発表

1. 論文発表

1) Tomaru Y, Yoshioka T, Sugaya H, Kumagai H, Hyodo K, Aoto K, Wada H, Akaogi H, Yamazaki M, Mishima H. Ten-year results of concentrated autologous bone marrow aspirate transplantation for osteonecrosis of the femoral head: a retrospective study. BMC Musculoskelet Disord. 2019; 20(1):410.

2. 学会発表

- 1) Yohei Tomaru, Tomokazu Yoshioka, Junichi Nakamura, Hisashi Sugaya, Shigeo Hagiwara, Kento Nawata, Seiji Ohtori, Masashi Yamazaki, Hajime Mishima: Treatment outcomes of corticosteroid induced osteonecrosis of the femoral head in system lupus erythematosus: matching adjusted comparison between femoral head preserving surgery and natural history in two different centers. ARCO, 2019.5.3-5.5
- 2) Yohei Tomaru, Tomokazu Yoshioka, Hisashi Sugaya, Hiroshi Kumagai, Yukiyo Shimizu, Katsuya Aoto, Hiroshi Wada, Hiroshi Akaogi, Naoyuki Ochiai, Masashi Yamazaki, and Hajime Mishima: Hip preserving surgery with concentrated autologous bone marrow aspirate transplantation for the treatment of osteonecrosis of the femoral head: outcomes of more than 10 years postoperatively. ARCO,

2019.5.3-5.5

- 3) Yohei Tomaru, Tomokazu Yoshioka, Hisashi Sugaya, Hiroshi Kumagai, Yukiyo Shimizu, Katsuya Aoto, Hiroshi Wada, Hiroshi Akaogi, Naoyuki Ochiai, Masashi Yamazaki, and Hajime Mishima: Results of a 10-year follow-up study on concentrated autologous bone marrow aspirate transplantation for osteonecrosis of the femoral head, and proposal of a method for quantitative evaluation of necrotic volume. EFORT, 2019.6.5-8

7. 知的所有権の取得状況

1. 特許の取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

8. 参考文献

- 1) Hernigou PM, Beaujean FM. Treatment of Osteonecrosis With Autologous Bone Marrow Grafting. Clin Orthop Relat Reserch. 2002;405:14-23.
- 2) Gangjii V, Hauzeur J-P, Matos C, De Maertelaer V, Toungouz M, Lambermont M. Treatment of osteonecrosis of the femoral head with implantation of autologous bone-marrow mononuclear cells. J Bone Joint Surg Am. 2004;17(6):910-915.
- 3) Sakai S, Mishima H, Ishii T, et al. Concentration of bone marrow aspirate for osteogenic repair using simple centrifugal methods. Acta Orthop. 2008;79(3):445-8.
- 4) Kuroda Y, Asada R, So K, et al. A pilot study of regenerative therapy using controlled release of recombinant human fibroblast growth factor for patients with pre-collapse osteonecrosis of the femoral head. Int Orthop. 2016;40(8):1747-54.
- 5) Houdek MT, Wyles CC, Collins MS, et al. Stem Cells Combined with Platelet-rich Plasma Effectively Treat Corticosteroid-induced

Osteonecrosis of the Hip: A Prospective Study.
In: Clinical Orthopaedics and Related Research.
Vol 476. Lippincott Williams and Wilkins;
2018:388-97.