

腰椎外科手術における自家骨・人工骨と多血小板血漿使用による骨癒合促進効果に関する多施設・前向きランダム化・臨床研究

千葉大学大学院 医学研究院 整形外科学
大鳥 精司

1、はじめに

高齢化社会に伴い、腰部脊柱管狭窄症は増加している。保存療法で軽快しない場合、手術療法が選択される。脊椎不安定性がない場合、除圧術の適応となるが、不安定性がある場合、インプラントと自家骨移植、もしくは人工骨（HA 等）を用いた固定術が併用される。しかしながら、採骨部痛、採骨部神経障害、骨癒合の遷延、偽関節等の成績不良例が存在し、その結果再手術が行なわれ治療に難渋する。現在のところ米国ではこれらを克服すべく脊椎固定術に **Bone morphogenetic protein** が使用されるが非常に高価であり、また、癌化の問題点があり、今後の本邦での使用に関しては不明な点が多い。多血小板血漿（platelet-rich plasma : PRP）は様々な作用を有することが知られている。特に、血小板の α 顆粒中には、創傷治癒に効果的な成長因子が多く含まれて、局所に移植することによって組織再生を図ることが始められた。しかしながら、脊椎固定の骨癒合に使用した報告は少ない。本研究は容易な自己血採血のみであり、また、基礎研究から臨床応用へのトランスレーショナルリサーチとして千葉大学医学部にて平成 21 年 3 月に認可された。以上より本臨床試験は脊椎固定術の際、局所骨や人工骨に PRP を添加することで、骨癒合の促進と、臨床成績の向上、副作用を明らかにすることを目的としている。

2、方法

選択基準：臨床試験責任医師、分担医師の外来を受診した腰椎手術予定でインフォームド・コンセントにより同意を得られた患者で、手術疾患名は腰椎：腰部脊柱管狭窄症、腰椎すべり症、変性側弯症であった。20 症例（2 群に）に本試験を行い、骨癒合効果、期間と副作用等の検討を行った。前向き非盲検ランダム化試験である。下記(1)(2)に示した割付因子*（年齢、性別）を用いた最小化法により症例を以下の 2 群に割り付けた。インプラント+自家骨 群、インプラント+自家骨+自己血 400ml から作成した PRP 群であった。

手術後の骨癒合能、臨床成績（腰痛、下肢痛）、PRP サイトカインアッセイ、副作用、合併症を検討した（レントゲン、CT、MRI、採血等）。また、術後外来通院期間は 1 年とした。PRP の採取と手術方法は、当日に自己血 400ml 採取し、遠心分離(800G(26cm)3 分)で濃厚血小板を作成した。さらに 3750G(26cm)6 分後、10ml ほど残し上澄みを除き PRP を採取した。手術の際に、PRP に 1/10 量のトロンビンと 5%CaCl₂を添加しフィブリンゲル状の PRP を作成し直接添加した。PRP 作成時の血球成分は術後戻し輸血とした。

評価項目：(1) 主要評価項目 (Primary endpoint) 主評価項目はレントゲン、CT による骨癒合で

あった。一般的に脊椎固定術での骨癒合判定は前後屈レントゲンでの椎間可動域が 2°以下、また単純 CT での横突起間の骨の連続性であった。合併症は、感染、発熱、臓器機能障害等であり、術後 2 週まで体温測定を毎日 2 回行った。血液検査は術当日、3 日、1 週、2 週で行った。検討項目は血算、生化学、CRP であった。

(2) 副次的評価項目 (Secondary endpoint) 患者の腰痛、下肢痛スコアと、PRP サイトカインアッセイであった (IL-6、TNF α 、TGF β 等)。JOA Back Pain Evaluation Questionnaire:日本整形外科学会腰痛評価質問票、VAS: Visual analogue scale、ODI :Oswestry Disability Index を用いた。

倫理的観点: 被験者の人権および安全性・不利益に対する配慮ならびに個人情報保護に関してであるが、人権への配慮として試験実施に係る生データ類および同意書等を取扱う際は、被験者の秘密保護に十分配慮すること、病院外に提出する症例報告書等では、被験者識別コード等を用いて行うこと、試験の結果を公表する際は、被験者を特定できる情報を含まないようにすること、試験の目的以外に、試験で得られた被験者のデータを使用しないとした。安全性・不利益への配慮として有害事象発生時の対処方法は速やかに適切な診察と処置を行うこと、また個人情報保護としてあらかじめ被験者の同意を得ないで、同意説明文書で特定された利用目的の達成に必要な範囲を超えて、個人情報を取り扱わないとした。

3、結果

3-1 骨癒合状態: レントゲン、CT を用いた、インプラント+自家骨群の骨癒合までの期間は平均 12 ヶ月であった。インプラント+自家骨+ PRP 群では平均 10 ヶ月であった。骨癒合に関しては有意にインプラント+自家骨+ PRP 群で短縮した ($p < 0.05$)。

3-2 疼痛の評価: JOA Back Pain Evaluation Questionnaire、VAS、ODI 3 つの質問項目において、インプラント+自家骨群とインプラント+自家骨+ PRP 群間に有意差はなかった ($p > 0.05$)。

3-3 サイトカインアッセイ: まず、PRP 中の血小板濃度であるが、血液中の約 16 倍と有意に増加していた ($p < 0.05$)。また、PRP 注の中のサイトカインアッセイを測定した。骨形成に関与する TGF β に関しては血中の約 10 倍の濃度であり有意な増加を認めた ($p < 0.05$)。

3-4 有害事象: インプラント+自家骨群とインプラント+自家骨+ PRP 群間共に感染、発熱、臓器機能障害等の有害事象はなかった。

4、考察

本研究の結果、脊椎固定術の際、局所骨に PRP を添加することで、骨癒合の促進が認められた。PRP 中の血小板濃度は、血液中の約 16 倍、骨形成に関与する TGF β に関しては血中の約 10 倍の濃度であった。PRP を使用するに当たり、感染、発熱、臓器機能障害等の有害事象はなかった。高齢化社会に伴い、腰椎部の脊柱管狭窄は増加している。平成 18 年度の国勢調査では腰椎由来の腰痛が国民愁訴の男女共に 3 位にランクされた。そのうち脊柱管狭窄症の割合を算出した詳細な解析はないが、総人口の 3%が脊柱管狭窄症を罹患すると言われている。

治療の第一選択は保存療法（運動療法、非ステロイド性消炎鎮痛剤、プロスタグランディン製剤等の内服加療、ブロック療法等）であるが、保存療法で軽快しない場合、手術療法が選択される。1979年、米国では腰部脊柱管狭窄症で手術を受けた人は、65歳以上の高齢者10万人あたり7.9人であったが、15年後には、高齢者10万人あたり61.4人が同じ疾患の治療に手術を選択している(1)。約8倍の増加率であり、腰部脊柱管狭窄症への手術療法が著しく増大している。一般の手術療法として、脊椎不安定性がない場合（すべり症がない場合）、圧迫部を除去する除圧術の適応となるが、不安定性がある場合、インプラント（ペディクルスクリュー）と自家骨移植、もしくは人工骨を用いた固定術が併用される。本邦に於ては野原らが2001年度の全国サーベイで196施設16157名の脊椎手術患者を調査したところ34.0%の患者にインプラント（ペディクルスクリュー）を用いた固定術が併用されていた。しかしながら、採骨部痛、採骨部の神経障害、骨癒合遷延、偽関節（最終的に骨癒合が完成しないこと）があり、成績不良例が存在する。その結果、採骨による新たな症状の出現や偽関節による脊椎不安定性の為の再手術例が10%の割合で存在する(2)。現在のところ米国ではこれらを克服すべく脊椎固定術に **Bone morphogenetic protein** が使用されるが非常に高価であり、また、今後の本邦での使用に関しては不明な点が多い。

PRPは骨癒合促進作用を持ち、歯科領域ではインプラントを組み合わせ、広く普及している(3-8)。整形外科の基礎的研究として、動物を用いた系で、軟骨再正誘導、椎間板再正に有用であることが報告された。共同研究者の中川らは *in vitro* でヒト変形性膝関節症から摘出した軟骨細胞とPRPの共培養にて、軟骨保護作用、再正因子の増加を報告した。また *in vivo* 家兔膝軟骨損傷モデルにおいてPRP投与は有意に軟骨再正を促すことを報告した(9)。海外のヒトに用いた研究ではPRPは筋、腱、骨癒合促進作用を持ち、肩腱板断裂、膝靭帯、四肢骨折の再正医療に有用との報告がある。しかしながら脊椎手術で応用した報告は少ない。

PRPは様々な作用を有することが知られている。血液中には様々な成長因子が創傷治癒に重要な役割を果たしていることがわかっており、この成長因子を用いた組織再生への試みが行われている。特に、血小板の α 顆粒中には、創傷治癒や組織再生に効果的な成長因子が多く含まれていることが知られており、この血小板を濃縮し、局所に移植することによって組織再生を図ることが始められた。PRPは、この血小板を高濃度に濃縮した血漿であり、健康な成人では血小板は血液 1 mm^3 中に12~38万個、平均で20万個程度含有するが、PRPではその3.5~4.5倍程度の高濃度の血小板が含まれる。PRPは、血液凝固反応の過程で血小板が脱顆粒を起こし、顆粒中に含まれるPDGF、TGF- β 、VEGFおよびEGFなどの成長因子を創傷部に放出する。これらは細胞増殖の促進、血管の新生、マクロファージの活性化、上皮細胞の成長作用が主な作用とされる。

PRPの機能に着目したMarxらは、1998年に歯科領域において初めて、骨再生および骨増大を目的に顎骨再建治療にPRPと腸骨を併用移植したことを報告し、X線診査および組織学的観察の結果、骨移植単独と比較して有意に高い骨成熟度と骨面積率を示した。

ヒト脊椎への応用はまだまだ報告が少ないが、四肢骨折偽関節例への使用が報告された。2008年Caloriらは120名の四肢骨折の偽関節例に **Bone morphogenetic protein 7** とPRPを使用した。**Bone morphogenetic protein 7** に比較するとやや時間を要するものの70%の症例で骨癒合が得られるこ

とが報告された (10) 。Bielecki らは同様に四肢骨折の 32 名の偽関節例に最小侵襲にて経皮的に PRP ゲルを注入した。その結果、骨癒合が得られたものは注射後平均 9.3 週と短期で良好な成績を報告した (11) 。以上の報告を加味し、脊椎固定術の際、局所骨に PRP を添加することで、骨癒合の促進が認められた、本研究の結果から、今後脊椎外科への応用の発展が考えられる。

参考文献

1. Marcia A. Ciol *Journal of the American Geriatric Society* 1996;44:285-290
2. Nohara Y, Taneichi H, Ueyama K, Kawahara N, Shiba K, Tokuhashi Y, Tani T, Nakahara S, Iida T. Nationwide survey on complications of spine surgery in Japan. *J Orthop Sci.* 2004;9(5):424-33.
3. 松尾朗 腔外科領域における再生医療最前線 再生医療を見据えた顎骨再建の戦略 日本口腔外科学会雑誌(0021-5163)53 巻 3 号 Page208-209(2007.03)
4. 嶋田淳 腔外科領域における再生医療最前線 上顎洞底挙上術に活かす再生医療 日本口腔外科学会雑誌(0021-5163)53 巻 3 号 Page210-211(2007.03)
5. 緒方寿夫 最新の創傷治療 多血小板血漿糊を利用した創傷治癒促進と scarless wound healing *PEPARS(1349-645X)*16 号 Page37-46(2007.07)
6. 松尾朗 当科における海綿骨細片(PCBM)と多血小板血漿(PRP)を併用した腫瘍切除後の下顎骨再建 頭頸部癌(1349-5747)33 巻 3 号 Page411-417(2007.10)
7. 朝比奈泉 【自家骨移植をともしなわぬ上顎洞底挙上術】 培養骨の応用 培養骨を用いた歯槽骨再生の臨床応用 歯科臨床研究(1348-9887)5 巻 1 号 Page11-18(2008.01)
8. 船越栄次 臨床家のための歯周治療の『いま』 歯周再生療法とインプラント治療の最近の傾向 歯界展望(0011-8702)111 巻 3 号 Page476-492(2008.03)
9. 中川晃一, 佐粧孝久, 荒井桃子, Fallouh Louay, 鈴木昌彦, 鶴岡弘章, 守屋拓朗, 和田佑一, 守屋秀繁, 高橋和久 変形性膝関節症患者の軟骨細胞に対する自家多血小板血漿の効果 *日本整形外科学会雑誌* 82 巻 8 号 PageS1124(2008.08)
10. Calori GM, Tagliabue L, Gala L, d'Imporzano M, Peretti G, Albisetti W. Application of rhBMP-7 and platelet-rich plasma in the treatment of long bone non-unions: a prospective randomised clinical study on 120 patients. *Injury.* 2008 Dec;39(12):1391-402.
11. Bielecki T, Gazdzik TS, Szczepanski T. Benefit of percutaneous injection of autologous platelet-leukocyte-rich gel in patients with delayed union and nonunion. *Eur Surg Res.* 2008;40(3):289-96.