

学 位 論 文 題 名

Deterioration of Mechanical Properties of the Autograft in Controlled Stress-shielded Augmentation Procedures — An Experimental Study with Rabbit Patellar Tendon —

（定量的負荷軽減を行った補強手術における自家移植腱の力学的特性の低下
— 家兎膝蓋腱を用いた研究 —）

学位論文内容の要旨

【緒言】

膝前十字靱帯損傷の手術的治療においては自家膝蓋腱を移植する方法が一般的に行われている。従来の数多くの研究から移植された膝蓋腱はリモデリングの過程で一旦その強度が低下し、その後移植腱が成熟する過程で強度が増加するといわれている。この一時的な強度の低下による自家組織の破断を防ぐために自家組織を人工材料で補強する方法（Augmentation法）が開発され臨床的に行われている。しかし、この時自家組織に生ずるstress shielding、すなわち自家組織に通常の力がかからないことの影響による組織の成熟に関しては不明な点が多い。骨に対するstress shieldingの影響に関する研究はWolfの法則に代表されるように多くなされてきたが、靱帯の如く軟部組織に関する研究は少ない。何人かの研究者はAugmentation法は有効であると報告し、また別の研究者はこの方法は移植腱の強度を低下させると報告している。

現在のAugmentation法において、永久に破断しない人工材料は存在しない。従って補強材としての人工材料が破断した後の事を考えると、補強を受けた移植腱そのものの強度がどの様に変化するかを明らかにすることが、Augmentation法における基礎研究に於て最も重要な問題の一つである。しかし従来の基礎研究では人工材料と移植腱の複合体の強度しか計測していない。しかもAugmentation法をうけた移植腱がどの程度の力学的環境下に置かれたのかを明らかにしている研究もない。

我々は自家移植腱が術後早期に一旦細胞壊死に陥るという事実に着目し、家兎膝蓋腱を生体内で凍結処理し、細胞を死滅させ自家移植腱モデルとする方法を開発してきた。この方法を用いることにより、周囲の力学的環境を損なう事なく、膝蓋腱の細胞をすばやく簡単に死滅させることが可能である。

本研究の目的は凍結処理した家兎膝蓋腱に定量的負荷軽減を行い、定量的負荷軽減量が膝蓋腱の力学的特性と組織学的変化に与える影響を明らかにすることである。

【材料と方法】実験材料には平均体重3.6Kgのメス成熟日本白色家兎120羽の膝蓋腱を使用した。右膝関節の膝蓋腱に対し、液体窒素を用いて線維芽細胞を死滅させ移植腱モデルとした。次に家兎を以下の3群に分けた。すなわち（1）膝蓋腱の負荷を完全に取り除いたcomplete stress shielding（以下CSS）群。（2）膝蓋腱にかかる負荷を通常の30%を目標に軽減させたpartial stress shielding（以下PSS）群。（3）凍結処理とsham手術を行い膝蓋腱にかかる負荷は正常であるSham群の3群である。また3群の左膝膝蓋腱はControlとした。

CSS群は、膝蓋骨にK-wire、脛骨結節にscrewを貫通させこの間にロール状にした

1cm幅のLeeds - Keio人工靱帯をかけて膝蓋腱の距離を約20%短縮させた後、特製のclampで固定し膝蓋腱を完全に無負荷の状態にした。PSS群はCSS群と同様の手術を行い、一時的に膝蓋腱に取り付けたbuckle transducerとload cellを用いて膝蓋腱にかかる負荷を通常の30%に調節した。術後は外固定を行わず、術後1, 2, 3, 6, 12週にて各グループ共に8羽ずつ屠殺し、引張試験による力学的特性の計測及び組織学的観察を行った。

引張試験は各膝関節から膝蓋骨・膝蓋腱・脛骨複合体を採取し、特性のジグを用いて膝屈曲角45°で把持した後、37℃生理食塩水中に固定し、20mm/minの速度でテンシロン万能試験機を用いて行なった。膝蓋腱実質部の歪の計測にはvideo dimension analyzerを、断面積の測定には自作したarea micrometerを用いた。

【結果】

12週経過したCSS群は膝蓋骨の骨折のため結果を得られなかった。PSS群における屠殺時の膝蓋腱にかかる張力はそれぞれ1, 2, 3, 6, 12週で通常の28.6, 33.1, 32.2, 52.3, 71.6%であった。

(1) 力学的特性

CSS群の断面積は術後2および3週でそれぞれSham群の156%および157%と有意に増加しており、PSS群では術後2週でSham群の133%と有意に増加していた。断面積の平均値でみるとPSS群はどの時期においてもSham群とCSS群の間の値であった。

膝蓋腱の単位断面積あたりの強度である引っ張り強度は全ての群で術後経時的に低下した。CSS群の引っ張り強度は術後1, 2, 3および6週でそれぞれsham群の55%, 32.1%, 17%および28%へと有意に低下した。PSS群のそれは術後3および12週でそれぞれ54%, 63%へと有意に低下した。また膝蓋腱にかかる負荷が小さいほど引っ張り強度の低下の度合は大きかった。

膝蓋腱全体の破断時の荷重である最大荷重は術後6週の時点ではcontrolに比べSham群は90%, PSS群は78%, CSS群で28%に低下していた。しかしSham群に比べるとPSS群はどの時期においても統計学的には有意の低下は認められなかった。CSS群では術後のどの時期においてもSham群に比べ有意に低下していた。

(2) 組織学的観察

液体窒素処理を行うと膝蓋腱の細胞は一旦死滅した後、術後2~3週で侵入してきた。CSS群では術後6週の時点では細胞の数も多く、細胞核の形はcontrolに比べより楕円形のものが存在した。PSS群では術後12週経過するとcontrolに比べるとやや細胞数は多いものの、細胞核の形は正常に近づいた。

【考察】

以上の研究からAugmentation法を行つた場合の移植腱そのものの引っ張り強度は、腱にかかる負荷が少ないほど低下の度合いが大きいことが明らかになった。またその変化は術後1週から起こっており、この時期には膝蓋腱の細胞は存在しないことから、負荷軽減は膝蓋腱の非細胞成分にも影響を及ぼしていることが推測された。

膝蓋腱の断面積は、膝蓋腱にかかる負荷の軽減量が大きいほど増加の度合いも大きくなるということがわかった。このことは単位断面積あたりの力学的強度の低下を断面積の増加で補うという生体の適応反応が起こっていると考えられた。しかし膝蓋腱の負荷を完全に取り除いたCSS群ではSham群と同じレベルまで最大荷重が回復しないことから、断面積の増加による組織の適応能力には限界があると考えられた。

本研究の結果から移植腱の成熟にとって適度な負荷の量が不明である現在、臨床におけるAugmentation法の安易な使用は控えるべきであると考ええる。

【結語】

(1) 家兎膝蓋腱を用い、移植腱モデルにおける移植腱自体の力学的強度と負荷軽減量との関係を明らかにした。

- (2) 膝蓋腱に対する負荷軽減により断面積は負荷軽減量に応じて増加した。
- (3) 膝蓋腱に対する負荷軽減により単位断面積当りの強度は負荷軽減量に応じ低下した。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 金 田 清 志

副 査 教 授 阿 部 和 厚

副 査 教 授 北 畠 顯

学 位 論 文 題 名

Deterioration of Mechanical Properties of the Autograft in Controlled Stress-shielded Augmentation Procedures —An Experimental Study with Rabbit Patellar Tendon—

(定量的負荷軽減を行った補強手術における自家移植腱の力学的特性の低下
—家兎膝蓋腱を用いた研究—)

膝前十字靱帯損傷の手術的治療においては自家膝蓋腱を移植する方法が一般的に行われている。従来の数多くの研究から移植された膝蓋腱はリモデリングの過程で一旦その強度が低下し、その後移植腱が成熟する過程で強度が増加するといわれている。この一時的な強度の低下による自家組織の破断を防ぐために自家組織を人工材料で補強する方法 (Augmentation法) が開発され臨床的に行われている。しかし、この時自家組織に生ずるstress shielding、すなわち自家組織に通常の力がかからないことの影響による組織の成熟に関しては不明な点が多い。

本研究の目的は自家移植腱モデルである、凍結処理家兎膝蓋腱に定量的負荷軽減を行い、負荷軽減量の違いが膝蓋腱の力学的特性と組織学的変化に与える影響を明らかにすることである。

方法

120羽の成熟日本白色家兎に手術を行い以下の3群に分けた。すなわち、膝蓋腱の負荷を完全に取り除いた群、膝蓋腱の負荷を通常の1/3に軽減させた群、膝蓋腱の負荷を通常のままにした群である。完全に負荷を取り除く手術は、膝蓋骨にK-wire、脛骨結節にscrewを貫通させこの間にロール状にした1cm幅のLeeds-Keio人工靱帯をかけて膝蓋腱の距離を約20%短縮させた後、特製のclampで固定し膝蓋腱を完全に無負荷の状態にした。定量的除負荷の手術は完全除負荷と同様の手術を行い、一時的に膝蓋腱に取り付けたbuckle transducerとload cellを用いて膝蓋腱にかかる負荷を通常の30%に調節した。それぞれの群に関して、術後1、2、3、6、12週で屠殺し、力学試験器を用いて膝蓋腱の破断試験を行った。さらに組織学的観察もあわせて行った。

結果

(1) 力学的特性

膝蓋腱に対する負荷軽減により断面積は負荷軽減量に応じて増加した。膝蓋腱に対

する負荷軽減により単位断面積当りの強度は負荷軽減量に応じ低下した。膝蓋腱全体の破断強度は、膝蓋腱の負荷を完全に取り除くとその強度は有意に低下したが、膝蓋腱の負荷が通常の30%かかっていたら有意の低下は認めなかった。

(2) 組織学的観察

液体窒素処理を行うと膝蓋腱の細胞は一旦死滅した後、術後2～3週で侵入してきた。膝蓋腱の負荷を完全に取り除くと術後6週の時点では細胞の数も多く、細胞核の形は正常に比べより楕円形のものが存在した。膝蓋腱にある程度負荷がかかっている場合には、術後12週経過するとcontrolに比べるとやや細胞数は多いものの、細胞核の形は正常に近づいた。

考察および結論

負荷軽減による膝蓋腱の力学的強度の変化は術後1週から起こっており、この時期には膝蓋腱の細胞は存在しないことから、負荷軽減は膝蓋腱の非細胞成分にも影響を及ぼしていることが推測された。さらに膝蓋腱に対する負荷軽減によって起こる単位断面積あたりの力学的強度の低下を断面積の増加で補うという生体の適応反応が起こっている可能性が示唆された。

本研究の特色は、(1) 従来の基礎研究では負荷軽減量が定量されていなかった。

(2) 従来の研究では移植腱単体の力学的強度を測定していなかった。という点をすべて明らかにしたことである。

本研究の結果から移植腱の成熟にとって適度な負荷の量が不明である現在、臨床におけるAugmentation法の安易な使用は控えるべきであると考えられた。

口頭発表に当たり、阿部和厚教授より断面積の増加の原因について質問があった。また北畠頭教授より繊維芽細胞における負荷と科学伝達物質の関係について質問があった。申請者は概ね妥当な回答を行った。さらに申請者は阿部教授、北畠教授に個別に審査を受け合格と判定された。

以上、本研究は膝蓋腱の靱帯にかかる荷重と力学的強度の関係を新たに明らかにした点に研究の創意がみられ、膝関節のバイオメカニクス分野に寄与した論文として、医学博士の学位に相応すると判定した。