

Mechanical properties of the anterior cruciate ligament chronically relaxed by elevation of the tibial insertion

(脛骨停止部の移動により弛緩された前十字靱帯の力学的特性の変化)

学位論文内容の要旨

【緒言】

生体組織には力学的環境の変化に適応する能力があり、与えられた環境に応じその形態や特性を変化させる可能性がある事が知られている。しかし、腱や靱帯にかかる負荷の変化が、その力学的特性にどのように影響するのかについては未だ不明な点が多い。関節固定による効果については、ラットやイヌを用いた研究で膝関節の関節包、腱、靱帯の強度低下が報告されている。また関節運動が靱帯強度を増加させるという報告も散見される。

一方、膝関節の靱帯のうち、前十字靱帯（以下ACL）は近年、臨床的に最も注目を集めている靱帯であり、この靱帯の力学的特性及び種々の力学的環境の変化による力学的特性の変化を調べることは極めて重要である。しかし、ACLを対象として、この力学的特性に対する負荷変化の影響について詳細に調べた報告は少ない。Noyesらは、サルにギプスを用いた体幹固定を8週間行い、ACLのMaximum failure loadが著明に低下(39%)したことを報告している。しかし、関節固定による効果の発現には、ACLに対する負荷の変化以外に多くの因子が関与していると推定され、ACLに対する負荷のみを直接的に変化させ、その変化がACLの力学的特性に及ぼす効果を選択的に明らかにした研究はない。

著者らは、ACLに対する負荷を直接的に変化させるため、その脛骨停止部をACLの長軸方向に移動させ、ACLにかかる張力を減少させる方法を考案した。本研究の目的は、この方法を用いて除負荷がACLの力学的特性に及ぼす影響について経時的に検討することである。

【対象と方法】

体重 9.95 ± 1.81 kg(mean $\pm$ S.D.)の雑種成犬58頭を使用した。右膝関節に対して手術を行い(Treated group)、30頭に対しては下記の手技によりACLを弛緩させた(弛緩群、relaxed group)。また別の28頭に対してはsham手術を行った(シャム群、sham group)。左膝関節のACLは手術をせずに対照側(Non-treated group)とした。術後外固定は行わず、ケージ内で飼育し、術後6週、12週で屠殺した。屠殺時に13個体ではACL脛骨付着部の骨片に破壊が認められたため、実験より除外した。残る41個体を力学試験に供し、4個体を組織学検索に供した。

力学試験は各膝関節から大腿骨-AKL-脛骨複合体を取り出し、膝屈曲90°でTensilon万能試験機に取り付けた特製のグリップに固定し、膝の前後移動距離(A-P translation)を測定した後、ACL以外の全ての軟部組織を除去し、area micrometerを用いてACL全体の断面積を測定した。引張試験に

際してはACLが実質部で破断するように、矢状面でantero-medial bandを含む約1/3の幅に切除し、再度この断面積をarea micrometerを用い測定した。引張試験では、靱帯実質部線維側の歪を測定するために膝関節を約90°回旋して靱帯のねじれを取り、cross-head speed 20 mm/minで行い、ロードセルとVDAからの出力よりX-Y-T Recorderを用いてLoad-deformation curveを記録した。

犬の個体差による影響を除くために個々の測定値を同一標本の非手術側（対照側）で除した数値をtreat/non-treat ratioと定義した。統計学的評価には、t-test、 χ^2 テストを用いた。

【結果】

A-P Translation：シャム群では解剖学的位置に整復固定したにもかかわらず、対照側と比較して6週で0.38 mm、12週で0.48 mmの移動距離の増加が認められた。これに対して弛緩群では6週で0.86 mm、12週で1.11 mmの移動距離の増加が確認された。treat/non-treat ratioでは、シャム群では6週で 1.15 ± 0.14 、12週で 1.19 ± 0.12 であり、弛緩群は6週で 1.33 ± 0.28 、12週で 1.48 ± 0.26 であった。12週でのみ両群間に有意差($P < 0.01$)を認めた。

断面積：シャム群では6週でtreat/non-treat ratioが 1.16 ± 0.12 、12週で 1.19 ± 0.10 と僅かに増加した。弛緩群では、6週で 1.37 ± 0.10 と対照側に対しては増加したが、12週では 1.29 ± 0.17 と6週と較べて減少した。弛緩群とシャム群との比較では、6週では弛緩群とシャム群との間に有意差($P < 0.01$)を認めたが、12週では有意差は認められなかった。

破断部位：対照群は全例靱帯実質部で破断したが、シャム群、弛緩群では約半数の例で軟骨下骨や骨接合部での破断を生じた。各週において、シャム群と弛緩群に破断様式の差はなかった(χ^2 テスト)。以下の力学的特性の解析には、靱帯実質部で破断した標本のみを用いた。

引張強度：シャム群では6週でtreat/non-treat ratioが 0.79 ± 0.15 と対照側に較べて減少したものの、12週では 0.87 ± 0.12 と回復傾向を示した。弛緩群では6週で 0.67 ± 0.17 と減少し、12週では 0.58 ± 0.08 とさらに減少した。弛緩群とシャム群との比較では、6週では有意差は認められなかったが、12週では有意差($P < 0.01$)が認められた。

弾性係数：シャム群では対照側に対して、6週で有意差を認めたものの、12週では有意差は認められなかった。弛緩群では対照側に対して6週、12週とも有意差が認められた。弛緩群とシャム群との比較では12週でのみ有意差($P < 0.01$)を認めた。

組織所見：シャム群、弛緩群とも対照側に較べて、細胞の核の形態や数には著明な変化を認めなかった。主な変化は間質とコラーゲン線維の変化であり、シャム群では間質の拡大があり、弛緩群ではこれに加え、シャム群では認められなかった後方線維束でのコラーゲン線維のfragmentationが認められた。

【考察】

本研究の結果では、シャム群でも対照側に対し変化が現れた。6週では断面積、引張強度、弾性係数の全てに対照側との間に有意差を認めた。断面積は増加し、引張強度、弾性係数は低下した。しかし、12週では断面積は依然増加したままであるが、引張強度、弾性係数には有意差を認めなくなった。この原因は、6週では付着部のくり抜きによる一時的な血流の途絶や手術侵襲による関節炎などの影響が考えられ、12週では、この影響が消退したため力学的特性が回復したのと考ええる。

弛緩群とシャム群との比較は、弛緩による効果を示す。6週で断面積に有意差を認めるものの、引張強度、弾性係数には有意差を認めなかった。一方、12週においては断面積に有意差を認めず、引張強度、弾性係数にはじめて有意差を認めたことから、ACLに対する除負荷の効果は、ま

ず断面積の増大として現れるが、引張強度、弾性係数への影響は早期には現れず、緩除に6週以後に発現することが示された。

以上のことから、前十字靱帯にとって除負荷はその力学的強度を低下させる有害な要素であると言える。

【結語】

- 1) 前十字靱帯の脛骨停止部を挙上し弛緩させることで除負荷し、力学的特性の変化を調べた。
- 2) 弛緩した前十字靱帯には、まず断面積の変化が起こり、続いて力学的特性の変化が起こった。
- 3) 力学的特性を表す引張強度と弾性係数は、12週まででは回復傾向はなかった。
- 4) 前十字靱帯にとって除負荷は、力学的強度を低下させる有害な要素である。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 真 野 行 生

副 査 教 授 金 田 清 志

副 査 教 授 寺 沢 浩 一

学 位 論 文 題 名

Mechanical properties of the anterior cruciate ligament chronically relaxed by elevation of the tibial insertion

(脛骨停止部の移動により弛緩された前十字靭帯の力学的特性の変化)

生体組織には力学的環境の変化に適応する能力があり、与えられた環境に応じその形態や特性を変化させる可能性がある事が知られている。しかし、腱や靭帯にかかる負荷の変化が、その力学的特性にどのように影響するのかについては未だ不明な点が多い。関節固定による効果については、ラットやイヌを用いた研究で膝関節の関節包、腱、靭帯の強度低下が報告されている。また関節運動が靭帯強度を増加させるという報告も散見される。

一方、膝関節の靭帯のうち、前十字靭帯（以下ACL）は近年、臨床的に最も注目を集めている靭帯であり、この靭帯の力学的特性及び種々の力学的環境の変化による力学的特性の変化を調べることは極めて重要である。しかし、ACLに対する負荷のみを直接的に変化させ、その変化が力学的特性に及ぼす効果を選択的に明らかにした研究はない。

本研究の目的は、ACLに対する負荷を直接的に変化させるために、その脛骨停止部をACLの長軸方向に移動させ、ACLにかかる張力を減少させる方法を用いて、除負荷がACLの力学的特性に及ぼす影響について経時的に検討することである。

方法としては体重 $9.95 \pm 1.81 \text{ kg}$ (mean $\pm$ S.D.) の雑種成犬58頭を使用し、右膝関節に対して手術を行い (Treated group)、30頭に対しては下記の手技によりACLを弛緩させた(弛緩群、relaxed group)。また別の28頭に対してはsham手術を行った (シャム群、sham group)。左膝関節のACLは手術をせずに対照側 (Nontreated group) とした。術後外固定は行わず、術後6週、12週で屠殺した。屠殺時に13個体ではACL脛骨付着部の骨片に破壊が認められたため、実験より除外した。残る41個体を力学試験に供し、4個体を組織学検索に供した。

力学試験は各膝関節から大腿骨－ACL－脛骨複合体を取り出し、膝屈曲90°でTensilon万能試験機に取り付けた特製のグリップに固定し、膝の前後移動距離(A-P translation)を測定した後、ACL以

外の全ての軟部組織を除去し、area micrometerを用いてACL全体の断面積を測定した。引張試験に際してはACLが実質部で破断するように、矢状面でantero-medial bandを含む約1/3の幅に切除し、再度この断面積をarea micrometerを用い測定した。引張試験では、靱帯実質部線維側の歪を測定するために膝関節を約90°回旋して靱帯のねじれを取り、cross-head speed 20 mm/minで行い、ロードセルとVDAからの出力よりX-Y-T Recorderを用いてLoad-deformation curveを記録した。

犬の個体差による影響を除くために個々の測定値を同一標本の非手術側（対照側）で除した数値をtreat/nontreat ratioと定義した。統計学的評価には、t-testを用いた。

この結果、A-P Translationにおいては、シャム群ではtreat/nontreat ratioが、6週で 1.15 ± 0.14 、12週で 1.19 ± 0.12 であり、弛緩群では6週で 1.33 ± 0.28 、12週で 1.48 ± 0.26 であり、12週でのみ両群間に有意差($P < 0.01$)を認めた。断面積においては、シャム群では6週でtreat/nontreat ratioが 1.16 ± 0.12 、12週で 1.19 ± 0.10 と僅かに増加した。弛緩群では、6週で 1.37 ± 0.10 と対照側に対しては増加したが、12週では 1.29 ± 0.17 と6週と較べて減少した。弛緩群とシャム群との比較では、6週でのみ有意差($P < 0.01$)を認めた。引張強度においては、シャム群では6週でtreat/nontreat ratioが 0.79 ± 0.15 と対照側に較べて減少したものの、12週では 0.87 ± 0.12 と回復傾向を示した。弛緩群では6週で 0.67 ± 0.17 と減少し、12週では 0.58 ± 0.08 とさらに減少した。弛緩群とシャム群との比較では、12週でのみ有意差($P < 0.01$)を認めた。弾性係数においては、弛緩群とシャム群との比較では12週でのみ有意差($P < 0.01$)を認めた。組織所見では、シャム群、弛緩群とも対照側に較べて、細胞の核の形態や数には著明な変化を認めなかった。主な変化は間質とコラーゲン線維の変化であり、シャム群では間質の拡大があり、弛緩群ではこれに加え、後方線維束でのコラーゲン線維のfragmentationを認めた。

これらの結果から、ACLを直接徐負荷することで、断面積は6週で137%に増加し、ACLも除負荷されることにより、早期に断面積が増加する事実が分かった。一方、引張強度は、6週では67%に低下するものの有意差を認めず、12週で58%に低下し、初めて有意差を認めたことから、力学的特性の変化は形態の変化に遅れて現れる事実が分かった。さらに、断面積など形態上はRemodelingが認められても、力学的特性はなお低下の途上にあると考えられた。

口頭発表に当たり、犬の年齢はどのように揃えたか、犬の膝ACLの力学的特性に左右差はないか、除負荷の後に再負荷の効果はどうか、正常なACLに過負荷を与えたらどうなるか、当該実験の臨床的な意義は何か、等の質問があった。申請者は、雑種成犬で体重をほぼ一定に揃えたが年齢そのものは不詳である、しかし、幼犬および老犬は使用されていない。本研究結果に影響を与えるような左右差はないことが証明されている。兎の膝蓋腱での実験で、除負荷による力学的特性の低下は再負荷によって回復することが証明されている。正常腱への過負荷は力学的特性を低下させることが同様な実験で証明されている。臨床的意義としては、ACL付着部剥離骨折での病態がこれに近似している、等の回答をした。その後個別に審査を受け合格と判定された。

以上、本研究は前十字靱帯における除負荷がその力学的強度に与える影響について初めて明らかにした点に研究の創意が見られ、膝関節のバイオメカニクス分野に寄与した論文として、博士（医学）の学位に相応すると判定した。