

学位論文題名

Effects of Resumption of Loading on Stress-Shielded
Autografts After Augmentation Procedures-An
Experimental Study-

(補強手術において負荷軽減を受けた自家移植腱
に対する負荷再開の効果－実験的研究－)

学位論文内容の要旨

【緒言】損傷膝前十字靱帯を再建するために、自家腱移植が行われているが、腱の線維芽細胞は移植後壊死に陥り、その力学的強度は低下すると言われている。この時期の自家腱を補強 (Augmentation)する目的で、様々な人工靱帯が開発され、臨床的に試みられている。しかし補強された移植腱には十分な負荷が作用せず、Stress Shielding(除負荷)を受けることになる。これまでAugmentation法に関する基礎研究においては、移植腱自体の張力や力学的強度は測定されておらず、Stress Shieldingを受けた自家腱に関する正確な力学的評価はなされていなかった。我々は自家移植腱に及ぼすStress Shieldingの効果を厳密に調べるため、まず家兎膝蓋腱を液体窒素にて凍結処理し、線維芽細胞を死滅させる自家移植腱モデルを開発した。さらにこのモデルを用いて定量的な除負荷を行える方法を開発し、これまでに持続的な負荷の軽減が自家移植腱の力学的強度を低下させることと、その強度の低下は、除負荷の程度に依存することを報告してきた。そこで除負荷により低下した自家移植腱の力学的強度を回復させる一つの方法として、Stress Shieldingを受けた移植腱に負荷を再開させるという方法が考えられる。しかし現時点において、このような力学的環境の変化が自家移植組織に与える効果についての生体力学的研究は皆無である。本研究の目的は、我々が開発した自家移植腱モデルを用いて、Stress Shieldingを受けて強度が低下した移植腱が負荷再開によって、その力学的特性を回復させることができるかどうか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3.5Kgの雌の成熟日本白色家兎110羽を用いた。右膝蓋腱を液体窒素により凍結処理し、膝蓋腱の線維芽細胞を死滅させることによって、これを自家移植腱モデルとした。次に110羽中80羽について、後述する方法で膝蓋腱にかかる負荷を完全に取り除いた後、20羽ずつ4つのGroup (除負荷群)に分けた。完全に除負荷した期間が1週間の「Group 1」、2週間の「Group 2」、3週間の「Group 3」、6週間の「Group 4」である。

膝蓋腱を完全な除負荷の状態にする方法は、膝蓋骨に直径1mmの鋼線を、脛骨結節に直径3mmのスクリューを貫通させ、この間に直径0.97mmのワイヤーをかけて引っ張り、

膝蓋骨-脛骨結節間距離を6mm以上短縮させることによって、膝蓋腱を完全な除負荷の状態にした。除負荷期間終了後、ワイヤーを切離して膝蓋腱に再び正常な負荷をかけた。全期間を通して外固定は行わずケージ内で飼育した。各Groupにおいて除負荷終了時すなわち負荷を再開する直前と、負荷再開後3週、6週および12週に5羽ずつ屠殺した。残りの30羽はSham群とし、これらに対しては除負荷群と同様に凍結処理した後、膝蓋骨と脛骨結節間にワイヤーをかけるのみで、膝蓋腱の除負荷は行わず術後1、2、3、6、12、24週に各5羽ずつ屠殺した。110羽中無作為に選んだ45羽の左膝蓋腱には一切の処置を加えずControlとした。屠殺後各関節から膝蓋骨-膝蓋腱-脛骨複合体を採取し、自作したarea micrometerを用いて断面積を計測した。次に膝蓋骨と脛骨をアルミニウム管内にレジンで固定し、特製のグリップを用い膝屈曲角度45°で把持した後、37°Cの生理食塩水中でテンシロン万能試験機を用いて引張試験を行なった。膝蓋腱実質部の歪の計測にはvideo dimension analyzerを用いた。統計学的解析には分散分析を用いた。

【結果】Sham群では、単位断面積当たりの強度である引張強度は、術後3週以降低下し始めた。

除負荷群の負荷再開直前における膝蓋腱の引張強度は、3週までは除負荷の期間に依存して有意に低下した。しかしGroup 3と4の負荷再開直前の引張強度の間には有意差を認めなかった。Group 1の引張強度は、負荷再開直前と比較して負荷再開後6週までは有意に低下したが、12週で6週と比較し有意に増加した。Group 2では、有意差は認められなかったが、負荷再開後引張強度は徐々に増加していく傾向が見られた。Group 3では、負荷再開後3週で負荷再開直前と比較し有意に引張強度は増加し、6週から12週でさらに増加した。Group 1、2、3において、負荷再開直前に認めた引張強度の有意差は、負荷再開後3週で消失し、6週および12週でも認められなかった。Group 4の負荷再開後の引張強度は、負荷再開直前と比較して6週までは変化しなかったが、12週では有意に増加した。しかしこの強度は他の3群と比較して有意に低かった。

【考察】本研究により、除負荷によって一度低下した凍結処理膝蓋腱の力学的特性に対する負荷再開の効果が明らかになった。すなわち、3週間以内の除負荷を受けた膝蓋腱では、負荷再開後3週経過時に引張強度は、ほぼ一定の値に収束し、負荷再開後6週までほとんど変化しなかった。しかしながら、12週経過すると増加し、同時期に相当するSham群の引張強度の値まで回復した。これは除負荷期間が3週以内であれば、負荷再開は除負荷の期間に関わらず、除負荷が膝蓋腱の力学的特性に与える影響を12週までに消失させることができることを意味する。一方、6週間の除負荷を受けた膝蓋腱の引張強度は、負荷再開後12週でもSham群のレベルまでは回復しなかった。しかし、他の除負荷群と同様に負荷再開後6週から12週で引張強度は有意に増加した。この結果は、今後さらに長期の経過観察を行えば、引張強度はSham群のレベルまで回復することが期待される。しかし、除負荷期間が比較的長期に及んだ場合、負荷再開の効果の程度および出現時期には、先行する除負荷に影響を受けたと考えられる遅れが生ずることが示唆された。

本研究の結果から、Stress Shieldingによりその強度が低下した自家移植腱でも、負荷を再開すればその強度はSham群のレベルまで回復すること、回復が期待されることが示された。しかし、除負荷の期間が3週以内でも、その回復には除負荷期間の4倍以上の期間を要するため、臨床において自家移植腱を用いた膝靱帯再建術を行う場合、術後できるだけ早期から移植腱に負荷をかけることが重要であると考えられる。

本研究は力学的環境の変化が自家移植腱組織の力学的特性に与える効果を初めて明らかにした。

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 安 田 和 則
副 査 教 授 石 川 博 将

学 位 論 文 題 名

Effects of Resumption of Loading on Stress-Shielded Autografts After Augmentation Procedures-An Experimental Study-

(補強手術において負荷軽減を受けた自家移植腱
に対する負荷再開の効果－実験的研究－)

損傷靱帯を再建するために自家腱移植術が行われているが、その力学的強度は移植後に低下することが知られている。この時期の自家腱を補強する目的で、様々な人工靱帯が開発されてきた。しかし補強された移植腱には十分な負荷が作用せず、強度が低下することが明らかとなってきた。そこで、このような自家移植腱の強度を回復させる一つの手段として、移植腱に再度負荷を与えるという方法が考えられる。しかし、現時点において力学的環境の変化が自家移植組織に与える効果についての生体力学的研究は皆無である。本研究の目的は、自家移植腱モデルを用いて、除負荷を受けた移植腱の力学的特性に与える負荷再開の効果を明らかにすることである。

成熟日本白色家兎110羽を用い、右膝蓋腱を液体窒素により凍結処理し、線維芽細胞を死滅させることによって、これを自家移植腱モデルとした。次に110羽中80羽について、膝蓋腱にかかる負荷を完全に取り除いた後、20羽ずつ4つのGroupに分けた。完全に除負荷した期間が1週間の「Group 1」、2週間の「Group 2」、3週間の「Group 3」、6週間の「Group 4」である。膝蓋腱は、膝蓋骨に鋼線、脛骨結節にスクリューを貫通させ、この間にワイヤーをかけて引っ張ることにより弛緩され、完全な除負荷の状態になった。除負荷期間終了後、ワイヤーを切離して膝蓋腱に再び正常な負荷をかけた。各Groupにおいて負荷を再開する直前と、負荷再開後3、6、12週に5羽ずつ屠殺した。残りの30羽はSham群とし、凍結処理した後、膝蓋腱の除負荷は行わず術後1、2、3、6、12、24週に各5羽ずつ屠殺した。屠殺後各関節から膝蓋骨-膝蓋腱-脛骨複合体を採取し、力学試験器を用いて腱の破断試験を行った。

Group 1における膝蓋腱の単位断面積当たりの強度である引張強度は、負荷再開後6週までは有意に低下したが、12週で6週と比較し有意に増加した。Group 2では、負荷再開後に

徐々に増加していく傾向が見られた。Group 3では、負荷再開後3週で負荷再開直前と比較し引張強度は有意に増加し、6週から12週でも増加を認めた。Group1、2、3において、負荷再開直前に認めた引張強度の有意差は、負荷再開後3週で消失し、6週および12週でも認めず、12週経過時の引張強度は、同時期に相当するSham群の値まで回復した。Group 4の負荷再開後の引張強度は、負荷再開後6週までは変化しなかったが、12週では有意に増加した。しかしこの値は他の3群と比較して有意に低く、同時期のSham群の約60%にとどまっていた。腱全体の破断時の強度である最大荷重も、引張強度と同様の変化を示した。

本研究により、除負荷後の凍結処理膝蓋腱の力学的特性に対する負荷再開の効果が明らかになった。すなわち、3週間以内の除負荷を受けた膝蓋腱の引張強度および最大荷重は、負荷再開後はほぼ一定の値に収束し、12週経過時には同時期に相当するSham群の値まで回復した。これは3週以内の除負荷であれば、負荷再開は除負荷が膝蓋腱の力学的特性に与える影響を12週までに消失させることができることを意味する。一方、6週間の除負荷を受けた膝蓋腱の引張強度および最大荷重は、負荷再開後6週から12週で有意に増加したが、Sham群のレベルまでは回復しなかった。以上の結果は、負荷再開の効果の程度および出現時期には、先行する除負荷に影響を受けたと考えられる遅れが生ずることが示唆された。

本研究結果から、臨床において自家移植腱を用いた膝靭帯再建術を行う場合、術後できるだけ早期から移植腱に負荷をかけることが重要であると考えられた。

公開発表に際し、副査の石川教授から、引っ張り速度決定の根拠、負荷再開の効果発現に遅延がある原因、および力学的強度回復における生物学的因子の関与について、副査の金田教授から、除負荷の期間が再負荷の質を変化させている可能性、再負荷の効果の発現と細胞の侵入時期との関係、実験モデルと臨床的手術との違いについて、副査の安田教授から、発見した力学的効果に伴う腱の形態学的変化の有無、力学的強度と構造的強度の再負荷による回復に差がある理由について、主査の真野教授からは、線維芽細胞によるコラゲン線維の産生に影響を与える負荷以外の因子の存在、侵入細胞に対する適当な負荷の量について質問があったが、申請者は何れに対しても研究結果と文献を引用して妥当な回答を行った。

審査員一同は、本研究が負荷軽減を受けた自家移植腱に対する再負荷の効果を初めて明らかにした成果を高く評価し、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有すると判定した。