

学位論文題名

Comparisons of Intraosseous Graft Healing Between the Doubled flexor tendon graft and Bone-patellar tendon-bone graft in anterior cruciate ligament reconstruction

(膝前十字靭帯再建における二重折り屈筋腱移植材料および骨片付き膝蓋腱移植材料の骨孔内治癒に関する比較)

学位論文内容の要旨

膝前十字靭帯 (以下、ACL) は膝関節の前方への動きを制限し、膝関節に安定性を与える重要な構成体の一つである。それが破断した膝関節では前方不安定性を生じるため自家移植組材料を用いた ACL 再建術が施行されることが多い。ACL 再建術が成功するためには移植した自家組織が骨にしっかりと固着する事が重要である。しかし移植した自家組織が骨孔内でのように固着するかについては、これまでほとんど知られていなかった。現在、臨床で広く使用されている自家移植材料は膝屈筋腱 (以下、FT) と骨片付き膝蓋腱 (以下、BTB) である。これまでどちらか一方の材料に焦点を当てた研究はいくつか報告されていたが、両材料の骨孔内治癒を比較検討した研究はなく、本研究ではそこに焦点を当てて実験を行った。

実験動物にはビーグル成犬 24 頭 (体重  $10.9 \pm 0.6$  kg) を用いた。両膝にそれぞれ別の移植材料を用いて ACL 再建を行った。自家移植材料として右膝には同側の膝より採取した幅 4mm の BTB (骨片長 10mm) を、左膝には同側の下腿より採取した浅趾屈筋腱を二重折りにして直径 4mm としたものを用いた。脛骨側は ACL 付着部中央を通るように直径 4mm の骨孔を作成し、いずれの移植材料もその端から 15mm を骨孔内に位置させた。大腿骨側は大腿骨後外側の over-the-top に沿って作成した骨溝に移植材料の他端を合わせて大腿骨の外側に引き出した。各移植材料の両端には 1 号タイクロン糸を通し、それぞれ糸を screw post に結び付け固定した。術後は外固定を行わずケージ内で飼育し、3 週、6 週および 12 週後に各 8 頭ずつ屠殺し、そのうち 5 頭を力学特性の評価に、3 頭を組織学的観察に供した。

生体力学的試験では両端をレジンにてアルミポットに固定した大腿骨-移植腱-脛骨 (FGT) 複合体を引っ張りの軸が骨孔の長軸方向に一致するように万能試験機に取り付け、脛骨側の固定糸を切除した後に、20mm/min の cross-head 速度で FGT 複合体の引き抜き試験を行った。破断時に複合体の破断様式を観察し、得られた荷重-変位曲線から最大荷重と剛性を求めた。組織学的観察では各週数のそれぞれの移植腱-脛骨の矢状面の標本を作成し、両者とも骨孔内外の種々の部位の腱-骨孔壁界面および腱実質内について光学および偏光顕微鏡にて観察した。また 6 週の破断様式を明確にするために引き抜き試験後の標本を組織学的に観察した。統計学的解析には分散分析を用いた。

結果。組織学的観察では、FT 群の 3 週で腱と骨孔壁との間隙は肉芽組織で埋められ、前方

の一部では腱と垂直に走って腱-骨孔壁間を結合する Sharpey 線維様の膠原線維の形成を認めた。6週では、その膠原線維はさらに数を増し、後方より前方の腱-骨孔壁界面に多く存在した。12週ではその膠原線維は前方でさらに密になり、後方では骨孔近位以外は疎であった。

一方、BTB 群の3週では移植骨片は壊死していたが、骨片の後方には骨孔壁からの骨新生による癒合が認められた。骨片の腱-骨移行部はほぼ正常であった。6週では、移植骨片の後方は広範囲に骨孔壁と癒合していた。骨孔内の腱-骨孔壁界面には Sharpey 線維様の膠原線維の形成が認められた。移植腱の腱-骨移行部では、軟骨細胞の減少と軟骨基質の染色性の低下を認めた。12週では骨新生が移植骨片内部にまで進展し、腱-骨孔壁界面には Sharpey 線維様の膠原線維が増加がしていた。

引き抜き試験において移植腱-脛骨複合体の最大破断荷重および剛性は、3週では FT 群は BTB 群より有意に低値を示した。しかし、6週及び12週では両群間に有意差を認めなかった。破断様式に関しては、3週の FT 群は全膝で骨孔から引き抜かれたが、6週では2膝で腱実質部断裂を生じ、3膝では骨孔から移植腱が引き抜けた。引き抜きを呈した標本を組織学的に観察すると、骨孔内には全周性に結合織が付着し、結合織には断裂した移植腱組織が付着していた。12週では全例腱実質部で断裂した。一方、3週の BTB 群では骨孔からの骨片の引き抜きが3膝、骨片部の破壊による腱部分の引き抜きが1膝、実質部断裂が1膝であった。6週の BTB 群では骨片部の破壊による腱部分の引き抜きが3膝、実質部断裂が2膝であった。骨片を伴って移植腱が引き抜けた標本を組織学的に観察すると、骨折が移植骨片の腱-骨移行部の遠位で生じ、腱が引き抜けていた。12週では全例腱実質部で断裂した。

考察。本研究にはいくつかの限界がある。1 つめには本研究はビーグル犬を使った実験であり、移植材料やその固定方法、また術後のリハビリテーションなど人間の ACL 再建とは異なっていることである。しかしこれまで報告された動物実験でも同様の方法で行われ知見を得ており、本研究の結果も支持できるものと考ええる。2 つめは本研究の引き抜き試験の速度が低速ということであるが、速度は力学試験の結果に影響しないとの報告もあり本結果に影響はないと考える。3 つめは術後6週の破断強度は破断様式が2種類あるため骨孔内の真の固着力を反映していないこと、4 つめは本研究は脛骨骨孔内だけの移植腱の治癒を観察しているため、大腿骨骨孔内に関しては明らかでないことである。

本研究では腱と骨孔壁をつなぐ膠原線維は後方よりも前方の界面に多いことをはじめて示した。これは間隙がより広い方が膠原線維がより多くなることを示唆した。この理由として広い間隙には多くのフィブリン凝血塊があり、それには多くの成長因子が含まれており移植腱の成熟に関与していると考えられる。また移植腱の前方は膝蓋下脂肪体に接しており、より多くの血管新生が期待でき、細胞の分化、成熟が進み膠原線維が増加する。さらに移植腱の前方部分には後方部分より高い張力がかかり、このストレスが細胞を刺激し膠原線維の合成を促進するとの報告もある。加えて本研究では骨孔内の近位部は遠位部より膠原線維が多いことを示したが、これは両部位でのストレスの違いによると考えられた。

BTB では骨片部分が腱部分より早期に骨孔内に骨癒合の形で固着し、その後腱部分が膠原線維により骨孔壁と結合する。これは屈筋腱とは明らかに違ったメカニズムである。本研究では ACL 再建後の移植腱-脛骨複合体の中で力学的に最も弱い部分は、移植腱の種類と時期により異なることを示した。すなわち FT の3週においてその部分は移植腱と骨孔壁間の肉芽組織であった。しかし6週 の FT のその部分は、骨孔内に存在する移植腱の線維間にあり、腱-骨孔壁界面のほうがより結合力が強いことが示された。BTB 群の6週においては、60%で骨片近位で骨折が起こり、腱部分が骨片をつけて引き抜かれたため、最も弱い部分は腱-骨移行

部に近い骨片内と腱部分周囲の肉芽組織内にあると考えられた。

臨床との関連として、3週間の骨孔内固定力に関する生体力学的評価ではFTよりBTBが有意に優れていた。この時期におけるFTのこの弱点は、固定用人工材料によって補われる必要があり、FTを固定する人工材料はBTBを固定するそれより重要であると考えられた。

しかし、6週および12週では骨孔内固定力に関して両移植材料間に差がなかった。この事実は、この時期になれば骨孔内固定力は両移植材料の優劣を決定するための因子とはならないことを示した。この事実は、今後の両移植材料を用いるACL再建術における固定材料の開発に重要な情報を与えたと考えている。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 三 浪 明 男  
副 査 教 授 渡 邊 雅 彦  
副 査 教 授 安 田 和 則

## 学 位 論 文 題 名

### Comparisons of Intraosseous Graft Healing Between the Doubled flexor tendon graft and Bone-patellar tendon-bone graft in anterior cruciate ligament reconstruction

(膝前十字靭帯再建における二重折り屈筋腱移植材料および骨片付き膝蓋腱移植材料の骨孔内治癒に関する比較)

膝前十字靭帯 (ACL) 再建術が成功するためには移植した自家材料が骨孔内でしっかりと固着する事が重要であるが、これまでその骨孔内での固着過程についてはほとんど知られていなかった。申請者は ACL 再建術における自家移植材料として臨床で広く用いられている二重折り屈筋腱 (DFT) と骨片付き膝蓋腱 (BTB) を選択し、両移植材料の骨孔内治癒を生体力学および組織学的に比較検討し、発表した。実験にはビーグル成犬 24 頭を用い、右膝には BTB を、左膝には DFT を用いて ACL 再建を行った。脛骨の ACL 付着部に直径 4mm の骨孔を作成し、そこに移植材料を 15mm 埋植させた。術後は 3 週、6 週および 12 週後に各 8 頭ずつ屠殺し、3 頭を組織学的観察に、5 頭を力学特性の評価に供した。力学特性の評価では万能試験機に大腿骨-移植腱-脛骨複合体を設置し、引き抜き試験を行った。

組織学的観察では、DFT 群は腱と骨孔壁との界面で腱-骨孔壁間を結合する Sharpey 線維様の膠原線維の形成を認め、それは後方より前方が、さらに経時的に数を増し密になっていった。一方、BTB 群では移植骨片の後方から骨癒合が認められ、それは経時的に骨片内部に拡大していた。また骨孔内の腱-骨孔壁界面には Sharpey 線維様の膠原線維の形成が認められ、移植腱の腱-骨移行部では、6 週以降では軟骨基質の染色性の低下を認めた。移植腱-脛骨複合体の最大破断荷重は、3 週では FT 群は BTB 群より有意に低値を示したが、6 週及び 12 週では両群間に有意差を認めなかった。破断様式に関しては、DFT 群は 3 週の全膝で骨孔から引き抜け、6 週では 3 膝で骨孔か

ら引き抜け、12 週では全例腱実質部で断裂した。移植腱が引き抜けた標本では、骨孔内には全周性に結合織とそれに付着した移植腱組織が観察された。一方、BTB 群は 3 週では 3 膝が骨孔から骨片全体が引き抜け、6 週では骨片部の骨折による腱部分の引き抜きが 3 膝、12 週では全例腱実質部で断裂した。小骨片を伴って移植腱が引き抜けた標本では、骨折が移植骨片の腱-骨移行部の遠位で生じ、腱が引き抜けていた。

考察では両移植靭帯が骨孔内に固着するメカニズムに相違があることを明らかにした。DFT では腱と骨孔壁をつなぐ Sharpey 線維様の膠原線維により固着され、その線維は後方の界面よりも前方に多いことを示した。一方、BTB では骨片部分が腱部分より早期に骨孔内に骨癒合の形で固着し、その後腱部分が Sharpey 線維様の膠原線維により骨孔壁と結合することを示した。また術後 6 週 の ACL 再建後の移植腱-脛骨複合体の中で力学的に最も弱い部分は、DFT は骨孔内の移植腱の線維間、BTB は腱-骨移行部に近い骨片内と腱部分周囲の肉芽組織にあると考察した。さらに術後 3 週で DFT が BTB より力学的に有意に劣ってる弱点は、人工固定材料によって補われる必要があり、DFT を固定する人工材料は BTB を固定するそれより重要であった。しかし、6 週以後は骨孔内固定力に関して両者に差がなく、この時期になれば両者は同等である。

審査にあたり、副査渡邊雅彦教授から、BTB の骨片が移植後壊死に陥ることによる影響に関して質問があった。申請者は、BTB の引き抜き試験で骨片の骨折が生じ引き抜けるため、骨片壊死は力学的に BTB の弱点になると回答した。続いて、副査安田和則教授から、今後の本研究の発展に関する質問があった。申請者は、移植靭帯の骨孔内治癒をより早期に達成するために成長因子を使用した研究を行う予定であると回答した。最後に主査三浪明男教授が、移植した屈筋腱の骨孔内での部位による治癒の差に対する申請者の考察に関して質問があった。申請者は自己の研究結果と文献的知識に基づいて概ね妥当な回答を行った。

この論文は、屈筋腱と BTB を用いる ACL 再建術の骨孔内治癒に関して同一の環境下において両者を比較検討した最初の報告であり、この結果および研究方法は移植靭帯の骨孔内治癒や移植靭帯の固定材料の開発に重要な情報を与え、今後の研究を進展させることが期待できる。審査員一同は、これらの成果を高く評価し、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ものと判定した。