

学位論文題名

Biomechanical evaluation of a newly devised model
for the elongation-type anterior cruciate ligament
injury with partial laceration and permanent elongation

(靱帯実質部の部分断裂と過伸長損傷を伴った
新しい膝前十字靱帯損傷モデルの生体力学的評価)

学位論文内容の要旨

【はじめに】

臨床において、実質部内部に広範な損傷が存在して弛緩しているが、実質部の連続性が保たれているような前十字靱帯 (ACL) 損傷に遭遇することは少なくない。このような損傷 ACL は放置されると弛緩した癒痕状の組織となり、ACL の機能は失われることが知られている。そのため現時点における治療法は、移植腱を用いた再建術が行われている。しかし、靱帯再建術は移植腱を採取するなど侵襲が少なくない。著者らはこのような形態の損傷 ACL に対して、何らかの治療を行うことによって ACL の機能を回復させようとする研究に着手した。ACL 損傷に対する治療の研究を行うためには、まず損傷後の自然経過に関して再現性のある ACL 損傷モデルを確立する必要がある。これまでいくつかの ACL 損傷モデルが報告されてきた。O'Donoghue は ACL を縫合したモデルを報告したが、このモデルでは断裂を脛骨付着部で作成しており実質部損傷モデルではない。Hefti は ACL の部分損傷モデルを報告した。しかし、このモデルは全く損傷させていない線維束が約 25% に存在するために靱帯の弛緩が存在せず、現実の ACL 損傷との間には大きな解離がある。このように過去に報告されたすべてのモデルは、前述の目的を達成するための研究を行うには不適當であった。そこで行った本研究の目的は、第 1 に、靱帯実質内にコラーゲン線維束の損傷が広範囲に存在して弛緩しているが、連続性は保たれているような新しい ACL 損傷モデルを開発すること、第 2 にその損傷 ACL の生体力学的特性に関する受傷後の自然経過を明らかにすることである。

【材料および方法】

実験動物として雌成熟日本白色家兎 36 羽を使用した。右 ACL に以下の方法を用いて損傷を作成した。まず ACL 実質部の中央から 2 mm 遠位と 2 mm 近位の高位で、前内側および後外側線維束をそれぞれ完全に切離した。次に膝屈曲 90°にて前方引き出し力を加えて、ACL 実質部に 2 mm の塑性伸び変形を作成した。その伸びは 18~22% (19.6 ± 2.2%) であった。術後は外固定を行わずケージ内で飼育した。36 羽を 9 羽ずつ無作為に 4 群に分け、各群をそれぞれ術直後、術後 6 週、12 週および 24 週で屠殺した。各群において 9 羽中 7 羽を力学試験へ、2 羽を組織学的観察に供した。なおこれらの家兎の左側から無処置の 9 膝を摘出し、正常対照群とした。膝前方移動距離の計測は、関節包を温存して膝関節を摘出後、大腿骨および脛骨を特性の把持具を介して、万能試験機に固定した。膝屈曲 30°、60°および 90°において 15N の前後方向荷重を加え、荷重-伸び曲線を作成した。この曲線上で前方引き出し荷重 10N までの変位を膝

前方移動距離とした。ACL の断面積の計測は、各標本を大腿骨-ACL-脛骨複合体とした後、Video dimension analyzer を用いた画像解析による非接触測定を行った。引張試験は、万能試験機を用い、preconditioning を行った後、20mm/min の速度で大腿骨-ACL-脛骨複合体を破断させた。統計検定には、1 元配置分散分析を用いた。有意水準は 5% とした。

【結果】

(1) 膝前方移動距離：対照群、0 週群、6 週群、12 週群および 24 週群の膝前方移動距離は、膝屈曲 30° でそれぞれ平均 1.1 mm、1.6 mm、2.0 mm、2.0 mm、および 2.1 mm であり、損傷群は対照群に比べ有意の高値を示した。膝屈曲 60° および 90° における結果は、30° におけるそれと同様であった。(2) ACL の長さおよび断面積：対照群、0 週群、6 週群、12 週群および 24 週群の ACL の長さは、それぞれ 10.4 mm、11.5 mm、11.5 mm、11.6 mm、および 11.7 mm であった。損傷群は対照群に比べ有意の高値を示した。断面積のそれは、6.4 mm²、6.1 mm²、5.8 mm²、5.8 mm²、および 5.2 mm² であり、各群間に有意差は認めなかった。(3) 破断様式と構造特性：破断様式は、対照群ではすべて裂離骨折であったのに対し、損傷群では全例が実質部断裂であった。対照群、0 週群、6 週群、12 週群および 24 週群の線形剛性は、136 N/mm、43 N/mm、65 N/mm、73 N/mm、および 69 N/mm であり、いずれの群も対照群に比べて有意に低値であった。12 週群は 0 週群に比べ有意に高値であった。最大破断荷重のそれは、362 N、103 N、146 N、175 N および 148 N であり、いずれの群も対照群に比べて有意に低値であった。12 週群は 0 週群に比べ有意に高値であった。(4) 組織所見：HE 染色による組織学的観察では、実質部内に広範に肉芽様組織形成を認め、コラーゲン線維の配列は不規則であった。

【考察】

本研究は、我々が開発した ACL 損傷手技を用いると ACL の長さはいずれの時期においても対照群の約 110% の値を示し、また膝前方移動距離は対照群に比べ有意な増加が起こることを示した。組織学的には靭帯内に広範な損傷が認められた。これらの結果は、この手技によって ACL 実質部内に損傷を広範に作成できることを示している。さらに本研究は、その損傷 ACL の線形剛性と最大破断荷重が損傷直後に正常の約 30% に低下し、その後約 50% に回復することを示した。ここで注目すべきことは、損傷後の各時期における測定値の標準偏差が比較的小さいことである。これは我々の開発した定量的な損傷手技が、常に同程度の損傷を ACL 内に作成できたことを示している。以上の結果は、我々の開発した方法がほぼ一定の治癒経過をたどる ACL 損傷モデルを作成できることを示した。ACL の治癒能力が低い原因には、ACL の線維芽細胞固有の治癒能力、薄い滑膜しか被われておらず関節内に存在するという特殊な環境、血行の乏しさなどが考えられる。*in vitro* の研究において、ACL の線維芽細胞の治癒能力が内側側副靭帯 (MCL) のそれほどには高くないことについて多くの研究がなされてきた。しかし、Spindler は、ACL 断端には I 型コラーゲンの mRNA が発現していることを明らかにした。この事実は、損傷 ACL には治癒機転が確かに起こっていることを示唆している。しかし、これまでの研究においては、ACL 実質部の完全損傷は放置した場合はもちろんのこと、たとえ縫合を行ったとしても連続性が保たれた治癒を起こさせることは極めて困難であった。この事実は損傷治癒が起こりやすい MCL と大きく異なっている。MCL 損傷との比較では、Weiss らは完全損傷を作った MCL の線形剛性が術後 6 週で 56%、12 週で 73% にも回復すると報告している。本研究の線形剛性は術後 6 週で 48%、12 週で 54% であった。この事実は本損傷モデルにおける損傷の程度が、決して軽いものではないことを示唆している。我々は実質部に広範な損傷が存在するが、連続性は保持され、損傷の程度および自然治癒過程に関して再現性の高い ACL 損傷モデルを開発できたと考える。このモデルは、治癒経過における種々の因子の効果を検討する上で有用である可能性がある。今後は、このモデルを用いて ACL 損傷の病態の解明や新しい治療方法の開発を行う予定である。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 福 田 諭
副 査 教 授 三 浪 明 男
副 査 教 授 安 田 和 則

学 位 論 文 題 名

Biomechanical evaluation of a newly devised model for the elongation-type anterior cruciate ligament injury with partial laceration and permanent elongation

(靭帯実質部の部分断裂と過伸長損傷を伴った
新しい膝前十字靭帯損傷モデルの生体力学的評価)

スポーツ外傷として頻発する靭帯実質部の部分断裂と恒久的過伸長を伴った前十字靭帯(ACL)損傷に対しては、これまで損傷靭帯を健常部も含めてすべて切除し、腱移植を行うしか治療方法はなかった。申請者はこのような損傷に *in situ* で再生・修復をもたらす新しい治療法の開発を目指し、その第一段階として、これまで確立されていなかった ACL 部分損傷モデルの開発を行った。申請者は 36 羽の家兔を用い、新しい ACL 損傷モデルを作成し損傷後の自然経過を生体力学および組織学的に評価した。方法は、ACL 実質部の前内側および後外側線維束をそれぞれ切離し、膝屈曲 90°にて前方引き出し力を加えて、ACL 実質部に 2 mm の塑性伸び変形を作成した。36 羽を 9 羽ずつ 4 群に分け、各群を術直後、術後 6 週、12 週および 24 週で屠殺し、各群において 7 羽を力学試験へ、2 羽を組織学的観察に供した。膝前方動揺性は、万能試験機に固定し、膝屈曲 30°、60°および 90°において 10N の前後方向荷重を加え測定した。断面積は、Video dimension analyzer を用いた画像解析による非接触測定を行った。引張試験は、万能試験機を用い preconditioning を行った後、20mm/min の速度で大腿骨-ACL-脛骨複合体を破断させた。その結果、膝前方動揺性は、損傷群は対照群に比べ有意の高値を示した。膝屈曲 60°および 90°における結果は、30°におけるそれと同様であった。ACL の長さは対照群を 100%とすると損傷群はいずれの群もほぼ 110%であった。損傷群は対照群に比べ有意の高値を示した。断面積は各群間に有意差は認めなかった。破断様式は、対照群ではすべて裂離骨折であったのに対し、損傷群では全例が実質部断裂であった。対照群、0 週群、6 週群、12 週群および 24 週群の線形剛性は、136 N/mm、43 N/mm、65 N/mm、73 N/mm、および 69 N/mm であり、いずれの群も対照群に比べて有意に低値であった。12 週群は 0 週群に比べて有意に高値であった。最大破断荷重のそれは、362 N、103 N、146 N、175 N および 148N であり、いずれの群も対照群に比べて有意に低値であった。12 週群は 0 週群に比べて有意に高値であった。組織学的観察では、実質部内に広範に肉芽様組織形成を認め、コラーゲン線維の配列は不規則であった。本研究は、開発した ACL 損傷手技を用いると ACL の長さはいずれの時期においても対照群の約 110%の値を示し、また膝前方移動距離は対照群に比べ有意な増加が起ることを示した。組織学的には靭帯内に広範な損傷が認められた。これらの結果は、この手技によって ACL 実質部内に損傷を広範に作成できることを示した。さらに本研究は、その

損傷 ACL の線形剛性と最大破断荷重が損傷直後に正常の約 30% に低下し、その後約 50% に回復することを示した。注目すべきことは、損傷後の測定値に高い均一性が認められることである。これは開発された定量的な損傷手技が、常に同程度の損傷を ACL 内に作成でき、また一定の治癒経過をたどる損傷モデルを作成できることを示した。ACL の治癒能力が低い原因には、ACL の線維芽細胞固有の治癒能力、薄い滑膜しか被われておらず関節内に存在するという特殊な環境、血行の乏しさなどが考えられる。in vitro の研究においては、ACL の線維芽細胞の治癒能力が内側側副靭帯 (MCL) のそれほどには高くないことについて多くの研究がなされてきた。しかし、Spindler らは、ACL 断端には I 型コラーゲンの mRNA が発現していることを明らかにし、損傷 ACL には治癒機転が確かに起こっていることを示唆している。本研究の力学的結果は、それらの事実を支持した。以上の結果は、定量的な損傷手技が損傷の程度および自然治癒過程に関して再現性の高い ACL 損傷モデルを開発できたことを示し、治癒経過における種々の因子の効果を検討する上で有用なモデルと考えられた。

口頭発表の後、副査の三浪教授より実験結果と臨床との整合性などについて、安田教授よりこのモデルの応用と限界などについて、また主査の福田教授より構造学的検討の詳細などについて質問があった。これらに対して申請者は自己の研究結果と文献的考察に基づいて概ね妥当な回答を行った。

本研究は靭帯実質部の部分断裂と恒久的過伸長を伴った新しい ACL 損傷モデルが開発されたことを示し、今後このモデルを用いた ACL 損傷の特異的治癒機序の解明や新しい治療法の開発が期待された。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、また申請者は在学中に本モデルを用いた発展的研究論文を 2 編投稿中である実績も加味し、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。