— 原 著 —

膝蓋腱と吸収性人工素材を用いたウサギ膝前十字靱帯再建術

ウサギによる力学的検討

林 英俊

日本医科大学整形外科科学教室

A biomechanical study of anterior cruciate ligaments reconstructed with
patella tendons augmented by absorbable artificial materials

A biomechanical study in rabbits

Hidetoshi Hayashi

Department of Orthopaedic Surgery, Nippon Medical School

Abstract

The purpose of this study was to investigate the biomechanical properties of anterior cruciate ligament (ACL) reconstruction using an absorbable artificial material in rabbits.

Experimental studies were carried out on 58 New Zealand white rabbits.

After total resection of ACL, 22 knees were reconstructed with patella tendons alone (non-augmented group) and 27 knees with patella tendons augmented by polyglactin 910 mesh (augmented group). The animals were sacrificed for biomechanical testing at 0, 2, 4, 6, 8, 12 and 24 weeks, respectively, after the operation.

The stiffness of reconstructed ACL in the augmented group showed a mean of 26.58 ± 5.78 N/mm at 8 weeks, and that of the non-augmented group 16.47 ± 11.34 N/mm. There were significant differences between the augmented and non-augmented groups ($p < 0.05$).

The ultimate load and energy of the reconstructed ACL were also significantly higher in the augmented group than in the non-augmented group at 8 weeks.

The mean elastic module was higher in the augmented than in the non-augmented group, but the differences were not significant.

The mean $\tan \delta$ of both groups was significantly higher than that of the normal ACL at 24 weeks.

These results suggests that polyglactin 910 mesh induces earlier maturation of transplanted patella tendons biomechanically, and may be a useful material for ACL reconstruction. (J Nippon Med Sch 1998 ; 65 : 220—226)

Key words : polyglactin 910 mesh, biomechanical study, augmentation, reconstructed anterior cruciate ligament

緒 言

膝前十字靱帯 (anterior cruciate ligament 以下 ACL) は膝関節機能を維持する上で最も重要な靱帯であり、その損傷はスポーツ活動のみならず日常動作にも多大な障害をきたすため、その損傷に対しては早期

の確実な治療が求められている^{1,2}。治療法に関しては、靱帯の一次修復は困難であることから ACL 損傷の多くは再建術を必要とし、今日までさまざまな術式や後療法が報告されている。しかし、再建素材については腸脛靱帯を用いた Hey Groves 法³以来、今日でも膝蓋腱⁴、半腱様筋⁵などの自家組織が好ましいとされているものの、靱帯のリモデリングに長期間を要し力学的強度も十分ではないことなどの問題点が指摘されている^{6,7}。

このような理由から自家組織の力学的補強のみなら

Correspondence to Hidetoshi Hayashi, Department of Orthopaedic Surgery, Nippon Medical School Hospital, 1-1-5 Sendagi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8603, Japan

ずリモデリングの促進を目的として、近年 polyester や polypropylene などの非吸収性素材とする靱帯補強材が開発され、その有用性が報告されている^{8,9}。しかし、一方では補強材の stress shielding によるリモデリングの障害¹⁰、あるいは素材の摩耗粉による慢性滑膜炎の発生¹¹など従来の再建術にはみられなかった合併症も散見され、新たな靱帯補強材が模索されている。polyglactin は代表的な吸収性素材であり、これをメッシュ状に加工した polyglactin 910 mesh は腹膜や筋膜の補填材として開発され、生体安全性とともに組織修復を促す作用を有することから靱帯補強材への応用が期待されている¹²。

本研究の目的は、polyglactin 910 mesh が移植自家組織のリモデリング過程に与える影響を力学的に評価し、靱帯補強材としての可能性を検討することである。

実験材料および方法

(1) 実験材料

体重約 3 kg の生後 6 カ月雌ウサギ (New Zealand 種) 58 羽を使用した。なお、本研究は日本医科大学動物実験倫理委員会の規定を遵守し行った。

(2) 実験方法

1) 手術方法：Pentobarbital Natrium 40 mg/kg を耳静脈より注入し全身麻酔を行った後、内側傍膝蓋切開で膝関節内に侵入し、ACL を完全に切除した。次に、代用靱帯として膝蓋靱帯内側 1/3 を骨付きで遊離採取した。ついで ACL の大腿骨および脛骨解剖学的の解剖学的付着部に直径 1 mm の骨孔をあけ、絹糸を用いて大腿骨・脛骨骨孔間距離が最少となる位置を求め、その位置に直径 3 mm の骨孔を作成した。骨孔に代用靱帯を通し、緊張を加えながら両端をワッシャー付スクリューで固定する。膝蓋腱単独で再建したものを単独群 (22 羽)、膝蓋腱を polyglactin 910 mesh で全周性に被覆補強したものを補強群 (27 羽) とした。また、9 羽を正常群とした (Table 1)。

術後は外固定は行わずゲージ内で飼育し、0, 2,

4, 6, 8, 12, 24 週の各時期で屠殺後、ACL 以外の軟部組織を除去して骨-靱帯複合体として取り出し、速やかに以下の実験に供した。なお、室温は 20℃度で一定とした (Fig. 1)。

2) 動力学試験：靱帯-骨複合体を円筒型治具に固定し、静的引っぱり荷重 5 N を毎分 1 mm の速度で加えた後、動的振動荷重 1 N を 35 Hz で負荷した。粘弾性体の指標となる $\tan \delta$ は粘弾性スペクトロメーター (東洋ボードウイン社製) を用いて測定した。なお、膝関節屈曲角度は靱帯の走行方向と荷重の方向を一致させるために 45 度とした (Fig. 2)。

3) 静的力学試験：動的荷重試験終了後、大腿骨側を 2.0 mm キルシュナー鋼線にて貫通固定し、インストロンタイプ万能試験機 (東洋ボードウイン社製) にて毎分 10 mm の速度で引っぱり荷重を加え、荷重変位曲線を求めた。

得られた曲線の直線部分の傾きから静的剛性を求め、最大破断強度は靱帯が破断した時の荷重とした。また、荷重変位曲線により囲まれた部分の面積から破断エネルギーを求めた。靱帯の断面積は断面を楕円に近似させ、長径と短径を計測して面積を求めた (Fig. 3)。予備実験として楕円に近似させて求めた面積を画像解析システム COSMOZONE-S (日本光学工業株式会社製) による実測面積と比較したところ、相関係数 0.92 で両者はよく一致していた。また、統計学的検討は分散分析法を用いた。

結 果

1. 静的試験

(1) 断面積

靱帯の断面積は術直後、補強群では平均 $11.98 \pm 2.15 \text{ mm}^2$ 、単独群は $10.75 \pm 1.38 \text{ mm}^2$ であった。補強群は術後 2 週で $7.20 \pm 2.10 \text{ mm}^2$ に一旦低下し、その後 4 週から 6 週にかけて急激に増加し、6 週では $16.477 \pm 1.79 \text{ mm}^2$ 、8 週では $18.71 \pm 2.80 \text{ mm}^2$ となった。以後、断面積は徐々に増加し、24 週では $22.83 \pm 6.26 \text{ mm}^2$ と正常群の 200.7% に達した。一方、単独群は 6 週まで断面積が低下傾向を示し、その後 8 週から 12 週にかけて増加し、24 週では $19.47 \pm 7.39 \text{ mm}^2$ と正常 ACL の 169.1% であった。

統計学的には 6 週および 8 週において補強群の断面積は単独群より有意に大きかった ($p < 0.05$) (Fig. 4)。

(2) 静的剛性

補強群は術直後平均 $15.33 \pm 14.43 \text{ N/mm}$ に対し、2 週では $6.65 \pm 2.84 \text{ N/mm}$ と正常 ACL 値の 9.3%

Table 1 Materials

	0 W	2 W	4 W	6 W	8 W	12 W	24 W
augmented group	5	4	4	3	4	4	3
non augmented group	3	3	3	3	3	4	3

normal ACL 9
(New Zealand white rabbits)

Fig. 1 Substitutes for ACL reconstruction
A: Augmented group, B: Non-augmented group

Fig. 2 Dynamic viscoelasticity is measured with the biomechanical spectrometer.

に減少した。その後4週から6週にかけて急激に増加し、以後プラトーとなり、24週で 33.73 ± 11.50 N/mm と正常 ACL の 47.2% に回復した。一方、単独群は6週まで低下傾向を示し、8週から12週にかけて徐々に増大し、24週で 24.73 ± 5.14 N/mm と正常 ACL 値の 34.6% になった。統計学的には8週において補強群の静的剛性は単独群に比べて有意に高かった ($p < 0.05$) (Fig. 5)。

(3) 最大破断強度および破断エネルギー

補強群は最大破断強度、破断エネルギーとも2週にて低下した後、4週から8週にかけて急激に増加し、

Fig. 3 The load-deformation curves of all specimens were recorded by the tensile tester.

Fig. 4 The area of reconstructed ACL. The differences between the augmented group and the non-augmented group were statistically significant at 6 and 8 weeks ($p < 0.05$).

以後ほぼプラトーとなり24週にてそれぞれ 90.07 ± 30.76 N, 115.77 ± 7.74 N・mm と正常 ACL の 44.8%, 30.8% に回復した。単独群は8週まで最大破断強度および破断エネルギーは上昇せず、8週から12週に増大した後、24週にてそれぞれ 89.13 ± 7.37 N, 120.53 ± 29.22 N・mm と正常 ACL の 44.4%, 32.06% となった。統計学的には最大破断強度および破断エネルギーは8週の時点で補強群は単独群に対して

有意に高かった(最大破断強度： $p<0.01$ ，破断エネルギー： $p<0.05$) (Figs. 7, 8).

(4) 弾性率

補強群は術直後では 14.76 ± 16.40 MPa，単独群は 10.71 ± 5.77 MPa であった。両群とも2週から4週にかけて減少した後，6週で増加し，それぞれ 17.82 ± 5.39 MPa， 15.58 ± 1.50 MPa となった。以後ほぼ一定の値をとり，24週において補強群 14.83 ± 2.92 MPa，単独群 14.20 ± 6.07 MPa とおのの正常 ACL 値の 23.08%，22.10%にとどまった (Fig. 8).

Fig. 5 Statio stiffness of the reconstructed ACL. The differences between the augmented group and the non-augmented group were statistically significant at 8 weeks ($p<0.05$).

Fig. 6 Ultimate load of the reconstructed ACL. The differences between the augmented group and the non-augmented group were statistically significant at 8 weeks ($p<0.01$).

2. 動的試験

Tan δ は補強群では術直後 0.135 ± 0.047 ，単独群 0.108 ± 0.048 であった。補強群は2週から4週にかけて有意に減少し，以後6週から増加傾向を示し，24週では 0.125 ± 0.017 であった。一方，単独群は2週から8週にかけて徐々に減少傾向を示し，以後増加し24週では 0.190 ± 0.088 であった。両群とも24週の時点における tan δ は正常 ACL 値に比べて有意に高かった ($p<0.0001$) (Fig. 9).

考 察

ACL 再建術の組織学的研究では，移植自家組織は阻血性壊死後に肉芽組織によって再器質化され，その後膝関節に加えられる負荷に応じてリモデリングされ，正常 ACL に類似した靱帯組織に構築される¹³。膝蓋腱を用いたウサギの再建実験では移植後8～12週で再器質化が完了し，16～24週で成熟した靱帯としての形態にリモデリングされる¹⁴。成熟時期については，ウサギで6カ月¹⁵，赤毛サルでは12カ月¹⁶，ヒトでは1年以上を要すると報告されている¹⁷。また，力学的研究では移植膝蓋腱の初期強度は ACL の160%前後とされているが¹⁸，移植後は阻血性壊死により，強度が10%程度まで低下し，リモデリング後も ACL の20～30%に回復するに過ぎないとされている^{6,7}。今回の検討でも，単独群の静的剛性，最大破断強度，破断エネルギーは2

Fig. 7 Energy required to cause failure of the reconstructed ACL. The differences between the augmented group and the non-augmented group were statistically significant at 8 weeks ($p<0.05$).

Fig. 8 Static elastic modulus of the reconstructed ACL. A tendency of higher modulus values can be seen in the augmented group rather than the nonaugmented group, but the difference is not statistically significant.

週から8週において2.2~7.9%に低下し、12週以後徐々に増加するものの24週では静的剛性が34.6%、最大破断強度は44.4%、破断エネルギーは32.1%にとどまった。一方、補強群では術後4週から力学的強度の回復傾向を示し、8週では単独群に比べ最大破断強度、静的剛性、破断エネルギーのいずれも有意に高かった。また、これらの力学的特性の推移は断面積の推移と類似しており、単独群と補強群の静的力学的強度の回復の差は主として断面積の増加、すなわち靱帯の再器質化の速さの違いによるものと考えられる。その要因として補強群に用いた polyglactin 910 mesh が一種の異物として働き、再器質化への契機となる炎症反応を促進し、以後の再器質化過程を促進したと推測される。

一方、弾性率についてみると補強群は6~24週のすべての時点で単独群を上回るものの、24週でも正常ACLの23.1%にとどまっていたが、最終的にはリモデリングが終了した再建靱帯の力学的特性は両群に差は認められなかった。

靱帯は複雑な構造を有する粘弾性体であり、日常比較的一定した周期の反復負荷を受けている。このため動的力学試験は、実際の損傷メカニズムに近い状況を想定でき、靱帯の特性をより詳細に理解できる^{19,20}。Tan δ は粘弾性の代表的な指標であり、振動荷重と変位の位相差で表わされる。諸家の報告では正常ACLは0.04前後とされるが、自験例では0.051であった。また、polyglactin 910 meshは0.6であり正常ACLに比べやや高い粘性を示した。

Tan δ の推移は両群とも術後一旦低下し、補強群では4週以降、単独群では8週以降から増加し、24週では両群とも正常ACLよりも粘性が有意に高かった。靱帯の強度の維持には弾性率とともに粘性が重要な要

Fig. 9 Tan δ of the reconstructed ACL. Tan δ gradually decreased with time in both groups (augmented: minimum at 4 weeks, non-augmented: at 8 weeks) and increased statistically at 24 weeks compared with ACL.

素であり、再建靱帯は高い粘性を有することにより靱帯に加えられた応力を緩和し、破断までのエネルギーの蓄積を増加させて強度を補っていることが示唆された。

再建靱帯の成熟過程を促進させる試みとして、川久保ら²¹やTownleyら²²はイヌの再建実験で滑膜や膝蓋下脂肪体の有茎移行が靱帯の再器質化を速めると報告した。Paulosら²³は屍体を用いて血管柄付き膝蓋腱移植を試みたが、技術的に困難で靱帯に緊張を加えた状態では血行が途絶えてしまうと述べている。

また、自家移植組織の力学的強度を高める方法として膝蓋腱と腸脛靱帯の併用、あるいは半腱様筋腱を多重折りにして移植腱の口径を太くする術式も考案されているが²⁴、採取部の侵襲や採取量に限界がある。

近年、polyesterやpolypropyleneなどを素材とするscaffold型の靱帯補強材が開発され、その有用性が報告されている²⁵⁻²⁷。富士川ら²⁸はLeeds-Keioメッシュ補強材を用いたブタの再建実験で、術後2~4週でメッシュ補強材は線維組織により覆われ、12週になると肉眼的にも靱帯の形態を呈するとし、polyesterが一種の異物反応として働くことにより靱帯の形成に必要な線維組織が誘導されると報告した。森ら²⁹は膝蓋腱単独群とpolyester併用群のウサギ比較実験で、靱帯実質部の肉芽組織による置換、および機能的配列のいずれもがpolyester併用群でより速やかであったと述べている。

しかし、McCarthyら¹⁰はDacron靱帯のように剛性の高すぎる靱帯補強材を使用するとstress shieldingが発生し、移植腱のリモデリングがかえって障害されると述べている。また、polypropyleneを用いた再建術の臨床報告では、人工素材の合併症として慢性滑膜炎や関節水症の発生が散見されている¹¹。Olsonら³⁰は現

在臨床に應用されている人工素材の摩耗粉に対する滑膜の反応性を実験的に検討した。その結果では, polyester と polypropylene のいずれもが対照群より有意に滑膜の反応性が高く, 半永久的に関節内に存在する人工素材が摩耗を受けた場合には慢性滑膜炎が発生する可能性があるとして述べている。

polyglactin 910 mesh は当初, 腹膜の補填材として開発され, 組織修復を促進することから現在では肩鎖関節の再建やアキレス腱断裂の修復にも用いられ, 関節外の組織では 8～12 週で加水分解されて吸収される^{31,32}。今回, 補強群に使用した polyglactin 910 mesh は再器質化過程を促進することにより³³, 再建靱帯の力学的回復を速めることが示唆された。また, 手術手技も容易かつ経済的であり, 移植腱の補強材として現時点で臨床応用が可能であると推察される。特に, 十分な量の移植腱が採取できない症例や revision 例に対しては良い適応があると思われる。

結 語

1) 吸収性人工素材を用いたウサギ膝前十字靱帯再建術後推移を力学的に検討した。

2) 静的剛性, 最大破断強度は術後 8 週の時点において補強群は単独群よりも有意に高かった。

3) 弾性率は術後 6 週から 24 週のすべての時点で補強群は単独群より高かったが 24 週においても正常 ACL の 23.1%にとどまった。

4) Tan δ は両群とも 24 週の時点で正常 ACL より高かった。

5) 再建後の力学的強度の回復が単独群に比べ補強群でより速やかであったのは polyglactin 910 mesh により, 靱帯形成に必要な再器質化がより早期に生じたためと考えられる。

稿を終えるにあたり, 御指導, 御校閲を賜りました日本医科大学整形外科教室白井康正主任教授に厚く御礼申し上げます。また, 本研究に関し終始懇切なる御協力を戴きました中山義人助教授および教室員一同ならびに立石哲也, 白崎芳夫両氏(機械技研)に感謝いたします。

なお, 本論文の要旨は, 第 16 回東京膝関節学会(1994 年 2 月), 第 23 回日本臨床バイオメカニクス学会(1996 年 11 月), 第 12 回日本整形外科学会基礎学術集会(1997 年 10 月)において発表した。

文 献

1. Noyes FR, Mooar PA, Matthews DS, Butler DL:

The symptomatic anterior cruciate-deficient knee: The long-term functional disability in athletically active individuals. J Bone Joint Surg 1983; 65 A: 154—162.

2. Noyes FR, Matthews DS, Mooar PA, Grood ES: The symptomatic anterior cruciate-deficient knee: The result of rehabilitation, activity modification and counseling on functional disability. J Bone Joint Surg 1983; 65 A: 163—174.

3. Hey Groves EW: Operation for the repair of the anterior crucial ligaments. Lancet 1917; 3: 674—675.

4. Clancy WG, Nelson DA, Reider B, Narechania RG: Anterior cruciate ligament reconstruction using one-third of the patellar ligament augmented by extra-articular tendon transfers. J Bone Joint Surg 1982; 64 A: 352—359.

5. Mott HW: Semitendinosus anatomic reconstruction for cruciate ligament insufficiency. Clin Orthop 1983; Janu-Feb 172.

6. Newton PO: Experimental studies on anterior cruciate ligament autografts and allografts. Knee Ligaments: Structure, function, injury and repair 1990; 389—399.

7. 橘田雅美: Augmentation 法によるウサギ膝前十字靱帯再建術の実験的研究. 日医大誌 1993; 60: 95—104.

8. Kennedy JC: Application of prosthetics to anterior cruciate ligament reconstruction and repair. Clin Orthop 1983; 172: Janu-Feb.

9. Fujikawa K, Iseki F, Seedhom BB: Arthroscopy after anterior cruciate reconstruction with the Leeds-Keio ligament. J Bone Joint Surg 1989; 71: 566—570.

10. McCathy JA, Steadman JR, Dunlap J, Shively R, Stonebrook S: A nonparallel, nonisometric synthetic graft augmentation of a patellar tendon anterior cruciate ligament reconstruction. Am J Sports Med 1991; 8(1): 43—49.

11. Parsons JR, Bhayani S, Alexander H, Weiss AB: Caron fiber debris within the synovial joint. Clin Orthop 1985; June 196.

12. Bakker FC, Wile F, Patka P, Haarman HTM: Surgical treatment of liver injury with an absorbable mesh: An experimental study. J Trauma 1995; 38(6): 891—894.

13. Muneta T, Lewis JL, Stewart NJ: Load affects remodeling of transplanted, autogenous bone-patellar tendon-bone segments in a rabbit model. J Bone Joint Surg 1994; 12: 138—143.

14. 近藤 稔: 膝関節前十字靱帯形成に関する実験的研究. 日整会誌 1979; 53: 521—533.

15. Ballock RT, Woo SL, Hollis JM, Akeson WH: Use of patellar tendon autograft for anterior

- cruciate ligament reconstruction in the rabbit: A long-term histologic and biomechanical study. *J Orthop Res* 1989; 7: 474—485.
16. Clancy WG, Nelson DA, Reider B, Narechania RG: Anterior cruciate ligament reconstruction using one-third of the patellar ligament, augmented by extra-articular tendon transfers. *J Bone Joint Surg* 1982; 64: 352—359.
17. Arnoczky SP, Tarvin G, Marshall J: Anterior cruciate ligament replacement using patellar tendon. *J B Bone Joint Surg* 1982; 64: 217—224.
18. Noyes FR, Butler DL, Paulos LE, Grood ES: Intra-articular cruciate reconstruction: perspectives on graft strength, vascularization, and immediate motion after replacement. *Clin. Orthop* 1983; 172: 71—77.
19. 久保寺大也, 塚本行男, 山本 真: 膝関節靱帯の力学的特性—動的粘弾性について—. *整形外科バイオメカニクス* 1983; 5: 133—137.
20. 宗田 大, 奥村信二, 森田定雄, 浅池 徹, 相川孝訓: 家兎膝関節の引張り試験—静的・動的引張りによる比較—. *整形外科バイオメカニクス* 1983; 5: 139—143.
21. 川久保誠: 膝前十字靱帯再建術における Scaffold 型 Polyester 製人工靱帯 (Leeds-Keio) の組織新生に関する実験的研究. *日整会誌* 1992; 66: 1016—1030.
22. Townley CO, Fumich RM, Shall LM: The free synovial graft as a shield for collagen ingrowth in cruciate ligament repair. *Clin Orthop* 1985; 197: July-August.
23. Paulos LE, Butler DL, Noyes FR, Grood ES: Intra-articular cruciate reconstruction. *Clin Orthop* 1983; 172: January-February.
24. Rosenberg TD, Graf B: Endoscopic technique for ACL reconstruction with Pro-Trac tibial guide: Endobutton fixation. *Acufex Microsurgical* 1994.
25. 白井康正, 中山義人: Augmentation 法の現況と将来の展望. *骨・関節・靱帯* 1990; 3: 961—965.
26. Roth JH, Kennedy JC, Lockstadt H, Mccallum CL, Cuning LA: Polypropylene braid augmented and nonaugmented intraarticular anterior cruciate ligament reconstruction. *Am J Sports Med* 1985; 13(5): 321—335.
27. 中山義人, 白井康正, 成田哲也, 元文芳和, 船越龍也, 森 淳, 橘田雅美, 小林 薫: Augmentation 法における再建靱帯の関節鏡所見. *東京膝関節学会誌* 1991; 12: 128—135.
28. 富士川恭輔: Leeds-Keio 人工靱帯再建術後の肉眼的, 組織学的所見について. *膝* 1984; 10: 35—40.
29. 森 淳: Polyester を用いた augmentation 法によるウサギ膝関節前十字靱帯再建実験の組織学的検討. *日医大誌* 1992; 59: 176—185.
30. Olson EJ, Kang JD, Fu FH, Georgescu HI, Mason GC, Evans CH: The biochemical and histological effects of artificial ligament wear particles: In vitro and in vivo studies. *Am J Sports Med* 1988; 16: 558—570.
31. Roberts JM, Goldstrohm GL, Brown TD, Mears DC: Comparison of unrepaired, primarily repaired, and polygractin mesh-reinforced Achilles tendon laceration in rabbits. *Clin Orthop* 1983; 181: 244—249.
32. Blatter G, Meier G: Augmentation der korakoklavikularen Bandnaht, *Unfallchirurg* 1990; 93: 578—583.
33. 飯沢典茂: 膝蓋腱と吸収性素材を用いた膝前十字靱帯再建術: ウサギによる組織学的, 分子生物学的検討. *日医大誌* 1997; 64: 298—306.

(受付: 1997 年 12 月 22 日)

(受理: 1997 年 12 月 29 日)