542 中央部 1/3 を除去した膝蓋腱の治癒再生組織の力学特性に及ぼす除荷の影響

Effect of stress deprivation on the mechanical properties of the patellar tendon after removal of central third

○学 浅沼 宏幸 (阪大院)
 正 遠山 晴一 (北大医)
 正 林 紘三郎 (阪大基工)

学 前田 英次郎 (Queen Mary College)
 正 安田 和則 (北大医)

Hiroyuki ASANUMA¹⁾, Eijiro MAEDA²⁾, Harukazu TOHYAMA³⁾, Kazunori YASUDA³⁾,
 and Kozaburo HAYASHI¹⁾

1) Graduate School of Engineering Science, Osaka University, Toyonaka, Osaka

2) Queen Mary College

3) Graduate School of Medicine, Hokkaido University, Sapporo, Hokkaido

Key word : ACL reconstruction, Healing patellar tendon, Stress shielding, Regenerated tissue

1. 緒言

近年のスポーツ人口の増加に伴い、膝関節の損傷例が増加している。中でも前十字靱帯（以下 ACL）は、膝関節の安定性等の役割を担っており、早期の治療が望ましい。しかしながら、ACL は自己治癒能力が低くギプス固定等の保存的な治療法では修復は困難である。そこで、生体内の軟組織の中でも高い強度を有する膝蓋腱の一部を自家移植片として用いることが一般的である。ところが、摘出後の膝蓋腱の修復機序には不明な点が多い。一般に軟組織の治癒には組織に作用する負荷が影響する。しかしながら、膝蓋腱の治癒に及ぼす負荷の影響について定量的に調べた研究は少ない。そこで、本研究では、膝蓋腱に靱帯再建用移植片の摘出を模した矩形の欠損を作成した後、作用する負荷を定量的に操作できる Stress shield 術により残存腱組織を無負荷状態にし、膝蓋腱の治癒に及ぼす除荷の影響について調べることを目的とした。

2. 実験方法

2.1 実験群

実験動物には、体重 $3.1 \pm 0.2 \text{ kg}$ (Mean $\pm$ S.D.) の成熟日本白色家兔（雌）を使用した。右膝蓋腱の中央に全幅の 1/3 の幅（約 3mm）で膝蓋骨遠位端から脛骨付着部までの全長（約 20mm）にわたる矩形の欠損を作成し、欠損部を認識するために、その 4 隅にナイロン糸でマーカーをつけた。次に、膝蓋骨にピンを、脛骨にスクリューを貫通させ、その間にステンレス鋼線をかけてこれを引張って固定し、腱組織を弛緩させて、負荷を完全に取り除く Stress shield 術^[1]を施し除荷治癒群（CSS 群）とした。対側左膝蓋腱には手術を施さなかった。なお、同様の欠損を右膝蓋腱に作成した別のシリーズの研究で、手術を施さなかった左膝蓋腱から得た結果を Control 群^[2]とした。術後は、外固定を行わずにケージ内で自由行動させ、3, 6 週間飼育した。比較対象として、本研究と同じ欠損を作成し、除荷操作を施さなかった自然治癒群（NSS 群）^[3]を用いた。

2.2 引張試験

膝蓋骨-膝蓋腱-脛骨複合体を摘出して周囲軟組織を取り除いた後、中央部再生組織（Regenerated tissue）と外側部、内側部の残存腱組織（Residual tissue）の 3 部分に分割した。非接触かつ湿潤環境中で試料の断面積を測定するため、Video dimension analyzer（VDA）を用い、それぞれの試料をステッピングモーターの軸に取り付けて 360° の範囲で 5° ずつ

回転させ、各角度で試料の幅を計測し、それらから断面形状を再構築して断面積を算出した。次いで、試料を引張試験機に取り付け、37℃の生理食塩水中で 0.5N のプリロードを加え、引張速度 20mm/min で伸びが 0.5mm になるまでの変形を 10 回繰り返すプリコンディショニングを施した後、破断するまで同じ引張速度で試験を行った。荷重をロードセルの出力から、また、試料につけた染料のマーカー間の距離を VDA で計測してひずみを求めた。

Fig. 1 Stress shielding technique.^[1]

2.3 組織観察

組織観察のために摘出した試料を 10 % フォルマリン水溶液で 24 時間以上固定後、HE 染色により横断面の組織標本を作成した。そして、光学顕微鏡を用いて、対側腱、中央部再生組織、外側部、内側部残存組織それぞれについて観察を行い、各組織中の 1mm² 当たりの線維芽細胞数（密度）を求めた。

3. 結果

CSS 群の治癒腱長さは術後 3 週で Control 群に比べて有意に減少し、6 週に至っても変化しなかった (Table 1)。一方、CSS 群の治癒腱の断面積は術後 3 週で Control 群に比べて有意に増加した。その後、6 週で断面積は減少したものの、依然として Control 群に比べて有意に大きかった。

CSS 群では術後 3 週ですでに欠損部は再生組織で充填されていた。しかしながら、再生組織の接線係数及び引張強度はそれぞれ Control 群のわずか 4%、7% と非常に低い値で

あった(Fig. 2 左). 3 週から 6 週にかけてこれらの値は増加したものの Control 群と比べると有意に低い値であった. CSS 群の再生組織の破断ひずみは 3, 6 週ともに Control 群に比べて有意に高い値であった. 残存組織の接線係数及び引張強度も術後 3 週でそれぞれ Control 群の 4, 6%まで大きく低下し, 6 週では増加したものの, 依然として Control 群に比べて有意に低い値であった(Fig. 2 右). しかしながら, 破断ひずみは 3, 6 週で Control 群に比べて有意に高い値であった.

CSS 群の再生組織及び残存組織の線維芽細胞数密度は術後 3 週で対側健常腱に比べて著しく増加した(Fig. 3). その後, 6 週で再生組織及び残存組織ともに細胞数密度は減少したものの, 対側健常腱と比べるとなお非常に高い値であった. また, 3, 6 週ともに再生組織の細胞数密度は残存組織に比べて高い値であった.

Table 1 Dimensions of control and healing patellar tendons.

		Whole Length	Cross-sectional area
		L_0 (mm)	A_w (mm ²)
Control [2]		18.3±1.3 (12)	21.1±3.7 (12)
3wks	CSS	12.5±1.2 (5) * **	49.3±7.1 (5) * **
	NSS[3]	22.4±1.3 (9) *	28.8±4.5 (9) *
6wks	CSS	12.8±1.9 (7) * **	44.1±6.7 (7) * **
	NSS[3]	24.6±2.3 (7) *	29.0±3.5 (9) *

() = Number of specimens

Mean ± S.D.

* $p < 0.05$ vs. Control

** $p < 0.05$ vs. NSS

Bonferroni / Dunn

$p < 0.05$ vs. Control

* $p < 0.05$ vs. NSS

** $p < 0.05$ vs. 3wks

() = Number of specimens
(Mean ± S.D.)

Fig. 2 Mechanical properties of each tissue.

Fig. 3 Averaged fibroblast density in mid substance of each tissue (Cont. = Contralateral tissue).

4. 考察

CSS 群では治癒腱の長さは 3, 6 週で Control 群に比べて有意に減少した. しかしながら, NSS 群では 3, 6 週ともに Control 群に比べて増加していた. これは, CSS 群の組織が完全に弛緩し, 無負荷状態で治癒したためと考えられる.

CSS 群の再生組織の線維芽細胞数密度は術後早期では NSS 群に比べて大きな値を示していた. しかしながら, CSS 群の再生組織の強度は NSS 群に比べて非常に低い値であった. これらのことから, 無負荷状態では, 産生されたコラーゲン等の腱構成要素が負荷に耐えうる構造にリモデリングするのを妨げられるものと考えられる.

一方, CSS 群の残存組織の強度は 3 週から 6 週にかけて回復傾向を示した. ところが, NSS 群では治癒期間の増加による強度の回復は確認できなかった. これは NSS 群の残存組織が組織の摘出により過負荷状態になり, 強度の回復が妨害されたのに対し, CSS 群では無負荷状態であるため, 組織が過負荷にさらされることなく治癒したため強度が回復傾向を示したものの考えられる. しかしながら, CSS 群の残存組織の強度は NSS 群に比べて非常に低い.

5. 結言

膝蓋腱の中央部に欠損を作成し, 無負荷状態で治癒させたところ, 術後 3 週ですでに欠損部には組織が再生されたものの, その強度は健常組織に比べて非常に低い値であった. また, 通常の負荷で治癒させた組織の強度よりも低かった. 残存組織の強度も同様であった. これらのことから, 移植片摘出後の膝蓋腱を良好に治癒させるためには, 適度な負荷, あるいは早期の固定解除が必要であると考えられる.

謝辞 (財) 宇宙フォーラム公募地上研究及び文部科学省科研費基盤研究 (A) (2) (No.15200036) の補助を得た.

参考文献

- [1] Yamamoto, N., Ohno, K., Hayashi, K., Kuriyama, H., Yasuda, K., Kaneda, K., "Effects of stress shielding on the mechanical properties of rabbit patellar tendon", J. Biomech. Eng., 115 : 23-28, 1993.
- [2] 廣孝文, 北村嘉章, 遠山晴一, 安田和則, 林紘三郎, "膝蓋腱治癒再生組織の力学的特性に及ぼす除荷・負荷軽減の影響", 日本機械学会第 13 回バイオエンジニアリング講演会講演論文集 : 21-22, 2002.
- [3] 野口仁志, 北村嘉章, 遠山晴一, 安田和則, 林紘三郎, "膝蓋腱中央全長 1/3 幅の欠損部に形成される治癒再生組織の力学的特性", 日本機械学会第 13 回バイオエンジニアリング講演会講演論文集 : 23-24, 2002.