半月板再建術における移植腱の組織学的検討

——骨膜被覆が移植腱に及ぼす影響——

The Influence of Periosteum on Tendon Grafts in Meniscus Reconstruction in Rabbits

谷川 直昭^{1,2)} 石川 大樹³⁾ 前田 慎太郎^{1,2)} 中山 博喜^{1,2)}
福原 大祐^{1,2)} 平田 裕也^{1,2)} 塩田 清二¹⁾

NAOAKI TANIGAWA^{1,2)}, HIROKI ISHIKAWA³⁾, SHINTARO MAEDA^{1,2)}, HIROKI NAKAYAMA^{1,2)},
DAISUKE FUKUHARA^{1,2)}, YUYA HIRATA^{1,2)}, SEIJI SHIODA¹⁾

¹⁾ Department of Anatomy, Showa University School of Medicine: 1-5-8 Hatanodai, Shinagawa-ku, Tokyo 142-8555, Japan.
TEL+81 3-3784-8104 E-mail: naoaki.t.1223@gmail.com

²⁾ Department of Rehabilitation, Sasaki Hospital Yokohama Tsurumi Sports and Knee Joint Center

³⁾ Department of Orthopaedic Surgery, Sasaki Hospital Yokohama Tsurumi Sports and Knee Joint Center

Rigakuryoho Kagaku 29(4): 569-572, 2014. Submitted Jan. 23, 2014. Accepted Mar. 15, 2014.

ABSTRACT: [Purpose] To investigate the effect of periosteum on tendon grafts in meniscus reconstruction in rabbits. [Subjects] Twelve Japanese white rabbits were used. [Methods] The extensor digitorum longus tendon was implanted with and without periosteal coating of the grafts in the left knee (periosteum group) and the right knee (non-periosteum group), respectively. Following sacrifice at 2, 4, 8, and 12 weeks after surgery, the rabbits were infused with a mixture of gelatin and vermilion India ink into the abdominal aorta and subjected to visual and histological inspections. [Results] Blood vessel images from the periosteum group were sharper from an earlier time point than those from the non-periosteum group, and showed a shape closes to meniscus. In the periosteum group, histological examinations revealed signs of endochondral ossification at 4 weeks, and cascaded chondrocytes and synovium tissue at 12 weeks after the surgery. In the non-periosteum group, these processes were retarded and incomplete. [Conclusion] The results suggest that coating periosteum on tendon grafts accelerates the pace of reconstruction of the meniscus tissue.

Key words: meniscus reconstruction, tendon, periosteum

要旨:〔目的〕移植腱に骨膜を被覆して家兎を用いた半月板再建術モデルを作製し、骨膜被覆が移植腱に及ぼす影響を検討した。〔対象〕日本白色家兎 12 羽を用いた。〔方法〕右膝には長趾伸筋腱をそのまま移植し（非骨膜群）、左膝には骨膜を巻き移植した（骨膜群）。術後 2, 4, 8, 12 週で屠殺した後、腹大動脈より朱色墨汁とゼラチンを混ぜた溶液を注入し、肉眼的また組織学的観察を行った。〔結果〕骨膜群の方が早期より血管像が鮮明に見られた。また、半月板形状へのリモデリングも早かった。組織像は骨膜群では 4 週で内軟骨性骨化を認め、12 週で軟骨細胞が縦列化し、滑膜様組織像がみられた。非骨膜群ではこれらの過程の遅れや不全が生じていた。〔結語〕骨膜にて腱組織を被覆することにより、半月板様組織変化が加速されたのではないかと考えた。

キーワード: 半月板再建術, 腱, 骨膜

¹⁾ 昭和大学 医学部 解剖学講座 顕微解剖学部門: 東京都品川区旗の台 1-5-8 (〒142-8555) TEL 03-3784-8104

²⁾ 佐々木病院 横浜鶴見スポーツ&膝関節センター リハビリテーション部

³⁾ 佐々木病院 横浜鶴見スポーツ&膝関節センター 整形外科

I. はじめに

半月板全摘出術や亜全摘出術後に関節症性変化を来す症例や、外側円板状半月板の辺縁部に修復不可能な変性断裂を来し治療に難渋する症例をしばしば経験する。これらの症例に対し欧米では同種半月板移植を行う選択肢もあるが、わが国では同種組織が入手しにくく施行が困難であり、この代わりとしていくつかの施設で自家腱を用いた半月板再建術が行われている。しかしながら術式や後療法が確立されておらず、臨床成績は必ずしも良好ではない^{1,2)}。Ochi ら³⁾は、膝関節軟骨欠損部に培養自家軟骨細胞を移植し、その部分を骨膜で覆うことにより、軟骨が再生されることを報告した。我々はこの発想を応用して、ヒトの半腱様筋腱に骨膜を被覆させた移植腱を作製して半月板再建術を行い、比較的良好な臨床成績を得ている。しかしその組織学的効果は不明なため、日本白色家兎を用いた実験系を作製し、移植腱単独使用と骨膜付移植腱での関節内リモデリングの違いを検討したので報告する。

II. 対象と方法

1. 対象

日本白色家兎（平均体重 3.7 ± 0.4 kg）12羽の両膝（24膝）を用いた。

2. 方法

両膝ともに内側半月板を切除し、同部位に大腿骨外顆付着部と筋腱移行部で切離した長趾伸筋腱を移植して半月板を再建した。脛骨近位外側面から前角部に向かう骨孔と脛骨近位内側面から後角部に向かう骨孔をそれぞれ作製した。右膝には長趾伸筋腱をそのまま移植し（以下、非骨膜群）、左膝には長趾伸筋腱に両脛骨近位部から短冊状に採取した骨膜を巻き付けて移植した（以下、骨膜群）。術後2, 4, 8, 12週で各3羽ずつ屠殺し、腹大動脈より朱色墨汁20に対しゼラチン1の割合の混合液を約100 cc注入して血管鋳型を作製した。その後、放射状に矢状断連続切片標本（3 μ m厚）をmasson-trichrome染色にて作製し、光学顕微鏡にて観察した。それぞれ得られた肉眼的また組織学的観察像を群間で比較した。なお、本研究は、昭和大学動物実験委員会の承認（承認番号53029）を得て実施した。

III. 結果

肉眼的所見 血管像は全ての週において骨膜群の方が非骨膜群に比べて、広く見えた。経時的に見ると、術直後から術後4週までは、徐々に血管像の範囲は広がりを増していた（図1. 2）。その後、血管像の範囲の変化は

見られなかった。形状に関しては、両群ともに半月板様に変化し先端の先細り現象が見られ、骨膜群の方が非骨膜群に比べ、早期から半月板に近い形状となっていた（図3）。

術後2週において骨膜群では血管像が確認されるが、非骨膜群ではほとんど見られなかった。形状に関しては骨膜群では先端の先細り現象が見られたが、非骨膜群では再建術時とほぼ同じであった。また骨膜群では灰白色で半透明の組織が表面を覆っていた。術後4週では両群ともに血管像の範囲の拡大が見られた。形状は両群ともに半月板様に変化しており差は認められなくなった。術後8週以降は両群ともに、血管像、形状は術後4週と同様であった。

組織像 masson-trichrome 染色 術後2週において骨膜群では腱周囲の被覆部分に多数の未分化細胞の浸潤が見られた（図4）。移植腱内部や先細り部位には膠原繊維が見られた。非骨膜群では移植腱の変性像が目立っていた（図5）。術後4週において骨膜群では被覆部分に内軟骨性骨化が見られ（図6）、術後2週の時点で部分的であった膠原線維は全領域に見られた。先細り部位の先端部分には滑膜様細胞が、またその内部には軟骨細胞が見られた。非骨膜群では未分化細胞が出現し始め、骨膜群で見られた内軟骨性骨化はまだ見られなかった。術後8週において骨膜群では移植腱内部にも内軟骨性骨化が見られ、先細り部位には滑膜様細胞が集簇していた。非骨膜群では移植腱内部で内軟骨性骨化が散見され、先細り部位に未分化細胞が見られた。術後12週において骨膜群では軟骨細胞が縦列化しており、一部に成熟した滑膜様細胞が見られた（図7）。非骨膜群では小型の軟骨細胞が散見される程度であり、軟骨細胞の縦列化は見られなかった。

IV. 考察

本研究において、肉眼的観察像では骨膜群の方が早期に血管像が見られ、術後4週をピークに血管像の範囲が増加し、術後12週の時点でも骨膜群の方が血管像の範囲は広い傾向にあった。よって骨膜には移植腱への血管新生を促進する働きがあるのではないかと考えた。組織学的観察像では術後2週において骨膜群に未分化細胞の浸潤が見られ、術後8週までは骨膜群の方が非骨膜群に比べ早期に内軟骨性骨化が観察され、移植腱の線維軟骨化や、先細り部位の滑膜様組織像が確認された。その後、少なくとも術後12週までは骨膜群の方が軟骨細胞の縦列化が見られており、早期に半月板様組織に変化することが示唆された。

また非骨膜群では、術後2週の時点で移植腱の変性像が目立ち、その後、腱組織が吸収・置換されていく過程の遅れや不全が生じていた。よって移植腱に骨膜を被覆

図1 術後2週における血管像の左右差
矢頭：血管像
骨膜群（左）では移植腱の表面に血管像（朱色部分）が確認できるが、非骨膜群（右）では見られない。

図2 術後4週における血管像の左右差
矢頭：血管像
両群とも血管像（朱色部分）を確認できるが、骨膜群（左）の方が範囲は広い。

図3 術後2週での形状差
矢頭：先端の先細り現象
骨膜群（左）では先端の先細り現象が見られる。

図4 骨膜群における未分化細胞の浸潤像（術後2週）
P：骨膜
G：移植腱
矢頭：未分化細胞の浸潤像
骨膜の腱組織側に多数の未分化細胞の浸潤を認める。

図5 非骨膜群における移植腱の変性像（術後2週）
G：移植腱
移植腱全体に変性像が目立つ。

図6 骨膜群における内軟骨性骨化所見（術後4週）
P：骨膜
G：移植腱
矢頭：内軟骨性骨化所見
骨膜部分全体に内軟骨性骨化所見を認める。移植腱には見られない。

図7 骨膜群における半月板様組織像（術後12週）
矢頭：滑膜様組織像
軟骨細胞の配列が整い、一部に滑膜様組織像を認める。

することは、移植腱自体にかかるストレスの保護にも有利に働くのではないかと考えられる。さらに滑膜細胞は軟骨に分化しやすく⁴⁾、軟骨修復を促進する⁵⁾働きがあることが報告されているため、半月板の修復には滑膜組織が関与していることが推察される。

以上のことから、肉眼的所見と組織学的所見において、移植腱に骨膜を被覆することで早期の血管新生が促進され、また術後に生じる移植腱の変性が抑制されることによって、半月板様組織変化が加速されたのではないかと考えた。

半月板再建術後のリハビリテーションの進め方に関しては、関節症性変化の度合いや移植腱の安定性、体重など様々な要因を加味して総合的に決定すべきである。本研究において術後4週で内軟骨性骨化が見られること、術後12週で軟骨細胞の縦列化や滑膜様組織像が見られ、半月板組織様に変化していることがわかったため、これらを参考にして術後リハビリテーションプログラム作成の目安にすると良いと考えた。

引用文献

- 1) Goble EM, Kohn D, Verdonk R, et al.: Meniscal substitutes-human experience. *Scand J Med Sci Sports*, 1999, 9(3): 146-157.
- 2) Johnson LL, Feagin JA Jr.: Autogenous tendon graft substitution for absent knee joint meniscus: a pilot study. *Arthroscopy*, 2000, 16(2): 191-196.
- 3) Ochi M, Uchio Y, Kawasaki K, et al.: Transplantation of cartilage-like tissue made by tissue-engineering for the treatment of cartilage defects of the knee. *J Bone Joint Surg Br*, 2002, 84(4): 571-578.
- 4) Sakaguchi Y, Sekiya I, Yagishita K, et al.: Comparison of human stem cells derived from various mesenchymal tissues: superiority of synovium as a cell source. *Arthritis Rheum*, 2005, 52(8): 2521-2529.
- 5) Koga H, Muneta T, Ju YJ, et al.: Synovial stem cells are regionally specified according to local microenvironments after implantation for cartilage regeneration. *Stem Cells*, 2007, 25(3): 689-696.