

令和 3 年 6 月 21 日現在

機関番号：37104

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09125

研究課題名（和文）腱板断裂モデルを用いた間葉系幹細胞移植の治療効果

研究課題名（英文）Therapeutic effect of mesenchymal stem cell transplantation on tendon-bone healing in chronic cuff tear model with suprascapular nerve injury

研究代表者

後藤 昌史（Gotoh, Masafumi）

久留米大学・医学部・准教授

研究者番号：70330868

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000 円

研究成果の概要（和文）：慢性腱板断裂群（以下TT群）、神経障害のある慢性腱板断裂群（以下DN群）を作成し、脂肪由来幹細胞を断裂部に注射し（以下+ADSC）、その後4週、8週、12週と比較した。引張試験で4週の剛性でDN>TTを認めた。8週の剛性・Young率でDN+ADSC>DNを認めた。組織学的検査では4週では明らかな差は認めなかったが、8週でDN群で見られた筋萎縮が、DN+ADSC群では改善した。また腱付着部でも4・8週時においてDN群で構造が未熟だったがDN+ADSC群でより成熟した構造が見られた。

今回の結果よりADSC注射によって断裂修復部構造の成熟度が高まり剛性の向上につながったと考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の研究では、脂肪幹細胞（ADSC）の腱板修復の効果について検討した。腱板修復におけるADSCの効果の報告は少ない。今回の結果では、ADSC注射によって断裂修復部構造の成熟度が高まり剛性の向上につながったと考えられる。

腱板修復術は安定した成績が報告されているが、大断裂・広範囲断裂に対しては未だチャレンジングな手術で、高い再断裂率が報告されている。今後ADSCの効果が認められれば、待機手術であれば事前に患者の脂肪を採取・培養し腱板手術時に注射することで再断裂リスクの低減が期待できるのではないかと考える。今回は母数が少なかつたため、今後母数を増やし報告していきたい。

研究成果の概要（英文）：Firstly, adult male Sprague Dawley rats underwent transection of the supraspinatus tendons with or without suprascapular nerve injury. Post operative 6weeks, animals received 1 of 4 operations additionally. 1) tendon repair only; TT group, 2) Tendon repair only but firstly received suprascapular nerve injury; DN group, 3) Tendon repair + adipose derived stem cells (ADSC) injection; TT+ADSC, 4) DN+ADSC injection; DN+ADSC. They were harvested at 4, 8, 12 weeks after tendon repair. We evaluated mechanical testing and histology. In terms of biomechanical testing, the stiffness and the Young's modulus of DN+ADSC was significantly higher than DN at 8weeks. In terms of histology, there was no difference between DN group and DN+ADSC group at 4weeks. However, DN group got atrophy at 8weeks, DN+ADSC groups improved atrophy. On the enthesis, while the properties of DN group was immature at 4, 8weeks, that of DN+ADSC got highly maturity.

研究分野：腱板断裂

キーワード：腱板断裂 脂肪由来幹細胞 肩甲上神経障害 幹細胞治療 腱板修復

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19（共通）

## 1．研究開始当初の背景

腱板断裂は成人の肩関節痛や運動障害の主要原因であり、その頻度は高齢化に伴い増加しており、60 歳以上では約 3 人に 1 人が罹患していると推測されている。しかし腱板断裂に対する手術治療については、術中に解剖学的な修復が完遂できたとしても、術後再断裂率は 30%前後といまだに高率であり、特に断裂サイズの大きい患者では再断裂率は 90%におよぶとの報告もあり重要な課題となっている。組織学的には修復された腱板縫合部は正常の線維軟骨層を介した 4 層構造が破綻し瘢痕組織で置換されて力学的強度が低下するとされている。このような背景から多くの動物実験で間葉系幹細胞の腱板断裂への応用が試みられ、Beitzel らは間葉系幹細胞を移植することにより組織学的に正常構造に近い治癒へ導き腱板縫合部の力学的強度も増強することを報告しており、間葉系幹細胞移植は腱板断裂への臨床応用が強く期待できる手法と考えられる。今回、我々は腱板断裂における付着部再生を目指し、間葉系幹細胞のソースとしてとして注目されている脂肪組織から同細胞を抽出・培養し移植を行いその効果について検討を行う実験計画を立てた。

## 2．研究の目的

腱板断裂修復部に対する間葉系幹細胞の効果を検証する。

## 3．研究の方法

10 週齢の Sprague Dawley rats を使用し、初回手術で棘上筋腱板断裂を作成した。この際、肩甲上神経障害群（DN 群）では肩甲上神経をクリップでつまみ損傷を加えた。初回手術後 6 週で腱板修復術を行い、初回手術で採取した自家脂肪由来幹細胞を断裂部に注射した（以下+ADSC）。グループとしては 陳旧性腱板断裂修復群（以下 TT 群） 陳旧性腱板断裂修復+ADSC 群 DN 群 DN+ADSC 群 コントロール群（健側）各 5 肩を作成し、2 回目の手術後 4 週、8 週、12 週で屠殺し、バイオメカニカルテスト（剛性、応力、Young 率、最大破断強度）と筋腹、腱骨移行部の組織学的評価（HE 染色）を行った。

## 4．研究成果

これまでの研究で肩甲上神経障害モデルは、神経切離モデルや、神経結紮モデルが報告されている。どれも生理的な神経障害モデルとは言い難く、今回は断裂を作成時にクリップでつまみ可逆的な損傷を加えたモデルを作成した。

バイオメカニカルテストでは 4 週で剛性において有意に DN > TT を認めた。健側は TT 群、DN 群、DN+BK 群より有意に高値だった。応力、Young 率では健側が他群より有意に高値だった。最大破断強度はそれぞれに有意差はなかった。8 週において剛性で有意に DN+ADSC > DN、TT > DN、健側 > DN を認めた。応力は健側が他群より有意に高値だった。Young 率では有意に DN+ADSC > DN を認め、健側は TT 群、DN 群、BK 群より有意に高値だった。最大破断強度はそれぞれに有意差がなかった。12 週において剛性で優位に DN+ADSC > TT であった。応力は健側が他群より有意に高値だった。Young 率では健側は TT 群、DN 群、BK 群より有意に高値だった。最大破断強度はそれぞれに有意差がなかった。組織学的評価では 4 週の時点では明らかな差は認めなかったが、8 週では DN 群で筋紡錘の横径に萎縮を見られたが、DN+ADSC 群では明らかな萎縮は見られなかった。また腱付着部の観察で 4 週、8 週時点において DN 群で腱骨以降部の構造が未熟であったが DN+ADSC 群でより成熟した構造が見られた。

今回の実験では、TT 群と TT+ADSC 群では引張試験項目において優位差は認めなかった。肉眼

初見と組織学的評価においても、腱修復部周囲に肉芽組織の増生を認めており、慢性断裂モデル作成での侵襲に対する生体反応が豊富に認められたため、引張試験での肉芽組織の影響は否定できないと考える。一方、神経損傷を加えた2群（DN群・DN+ADSC群）でも同様に肉芽組織の増生を認めているが、ADSC群で成熟度が高く8週の剛性が高まった。両群間では引張試験で剛性の項目で有意差があり、これは腱骨移行部の成熟性が影響していると考えられる。最大破断強度ではどのタイムポイントにおいても有意差は認めなかったが、8週での剛性にて神経障害およびYoung率にADSC添加群と非添加群に有意差があり、ADSCが縫合腱の修復過程の亜急性期に剛性の向上に寄与することが示唆される。

今回の結果よりADSC注射によって腱骨移行部の成熟度が高まり術後8週の剛性の向上につながったと考えられる。亜急性期の腱骨移行部の成熟度と剛性が高まれば修復腱の再断裂率低下に有用である可能性がある。また、脂肪由来幹細胞は比較的低侵襲に採取・培養することができる。さらに幹細胞の修復腱への効果が立証されれば、今後の腱板修復術の低侵襲のaugmentationとして期待できるものとする。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6 . 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7 . 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------