

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 2 日現在

機関番号：14401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2018～2019

課題番号：18H06437・19K21510

研究課題名(和文) 膝蓋腱障害の病態解明と治療法開発：エコーによるヒト疾患と動物モデルのリンク

研究課題名(英文) The investigation of patellar tendinopathy using animal models and ultrasonography

研究代表者

金本 隆司 (Kanamoto, Takashi)

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：20512049

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：腱障害の診断・治療評価において、超音波診断装置(エコー)は有用である。しかし、エコーで描出される像の生物学的意義についての知見は不足している。本研究では、ラット膝蓋腱障害モデルの確立と、エコー画像と組織評価の比較を目的とした。膝蓋腱切除モデルを中心として、その治療過程を超音波診断装置による非侵襲的縦断評価が可能であることを確認した。そのうえで、膝蓋腱治療には骨切除を併用することで大きな影響(残存腱組織の肥大と再生組織volumeの増大)があることを確認し、エコー描出画像と組織像が対応することを示した。トレッドミル走行負荷では、腱組織治療への影響は確認できなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

運動器超音波(エコー)の使用は今後ますます増えると予想される。腱組織は、そのターゲットとして重要であり、様々な場面でのエコーの活用が期待される。本研究の成果として、腱障害の動物疾患モデルと縦断的超音波評価を用いた実験モデルの確立があげられる。様々な外科的介入・保存的加療の基礎的知見を得るための有用なツールとなる。また、本研究の技術は筋損傷モデルや神経損傷モデルへの発展が可能であり、意義は大きい。

研究成果の概要(英文)：Ultrasound is useful for evaluation of tendon injuries and disorders. However, there is a lack of knowledge about the biological significance of the ultrasound findings. The purpose of this study was to establish a rat patellar tendon injury model and to compare ultrasound findings with tissue histological analysis. It was confirmed that the healing process of the patellar tendon resection model can be evaluated non-invasively by an ultrasound. In addition, it was confirmed that partial bone (patella and tibia) resection for patellar tendon healing had a significant influence (enlargement of residual tendon tissue and increase in regenerated tissue volume), and showed that ultrasound findings and histological features well correlated. Treadmill running load didn't affect patellar tendon tissue healing.

研究分野：スポーツ医学、整形外科学、健康科学

キーワード：超音波診療 膝蓋腱障害

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

健康寿命の延長を目的とした運動習慣の継続が重視されるようになり、運動器疾患の予防・診断・治療の重要性も増している。ジャンパー膝（膝蓋腱炎）やテニス肘（上腕骨外側上顆炎）、アキレス腱炎などに代表される慢性腱障害は、競技レベルのアスリートにとっては深刻な問題となるが、一般のスポーツ愛好家においても頻繁に問題となる **common disease** である。しかし、高頻度の疾患であるにもかかわらず、その病態解明は不十分であり、治療に難渋するケースも少なくない。

腱組織は、筋肉・骨など他の運動器官と比べて血流に乏しいため、微少なダメージであっても蓄積しやすく、腱実質の質的低下となって、物理的負荷による疼痛などの運動障害につながると考えられている。しかし、手術での切除組織が示す終末像以外に、ヒトの腱障害の発症および病状進行のメカニズムを検討する材料はなく、その病態には未知な点が多い。

現在、腱障害の診断・評価については、エコーの有用性が広く認識され、臨床現場・スポーツ現場での利用頻度は飛躍的に高まっている。腱組織の異常を同定する感度に関しては、エコーは極めて優れており、腱障害の典型的な所見についてもコンセンサスが得られている。しかし、描出される画像情報と臨床症状の関連を明確に示した研究は少なくまた、組織レベル・分子レベルで病態との関連を調べた報告は渉猟した限り、見当たらない。治療中のヒト腱組織を組織学的・分子生物学的に解析することは困難であるため、動物疾患モデルが重要であり、その作成及び評価法の確立が必須である。

2. 研究の目的

本研究では、膝蓋腱障害モデルを作成し、エコー所見を経時的に記録した上で、組織学的・分子生物学的手法で検討比較する。膝蓋腱障害の病態解明につながる知見が期待できました、エコー所見が意味する組織・分子生物学的背景を明らかにすることで、治療方針決定の判断材料としてのエコーの有用性の向上が期待できる。本研究課題の核心的「問い」は、腱障害発症の分子メカニズムは何か、臨床場面で腱障害の所見とされるエコー画像が意味する病態は何であるか、である。

3. 研究の方法

① 膝蓋腱障害モデル（ラット）の比較

膝蓋腱障害モデルを作成し、以下を評価する。

- 個体としての自発運動量（回転ケージによる飼育装置を利用）。
- エコー所見：膝蓋腱内の hypoechoic lesion、血流シグナル、腱の厚み・断面積。
- 組織学的・分子生物学的評価：病変を含んだ組織切片を作成し、各種染色法での形態評価、in situ hybridization、免疫染色法による分子発現の解析を行う。

② 膝蓋腱障害に関与する分子の探索

正常腱組織・病的腱組織から抽出した転写産物をテンプレートとして、転写因子・シグナル伝達分子などを想定した degenerate PCR 及び DNA microarray によって、遺伝子発現の比較を行う。正常・病的組織間で差異がみられた分子について、腱障害との関連を検討する。

③ 治療法の検討

Eccentric exercise（遠心性運動）、エコーガイド下の Hydro-Release（膝蓋腱と皮下組織・膝蓋下脂肪体間の液性剥離）、エコーガイド下の病巣周囲への薬液注入（ヒアルロン酸、ステロイド）、Whole body vibration などによる介入の効果を検討する。効果判定として、エコー所見、自発運動量、組織学的評価を用いる。

4. 研究成果

超音波診断装置（エコー）による腱組織評価のベースとなる膝蓋腱障害モデルの比較検証を行った。その作成中に得られた結果と、本研究を並行して施行中であったヒト臨床研究で得られた知見から、膝蓋腱及び骨（膝蓋骨・脛骨）の一部を切除したモデルを対象の中心とした。頻度の高いスポーツ外傷である膝前十字靭帯の治療に用いられる自家骨付き膝蓋腱採取後と同様のモデルと認識できる。

(1) 膝蓋腱障害モデルの作成と超音波診断装置を用いた非侵襲的縦断評価の確立

膝蓋腱障害モデルラットの作成のため、必要物品の整備・購入（トレッドミルの設置・調整、超音波診断装置関連の物品購入と描出能の最適化、外科処置器具・薬剤購入）を行った。これらの設備を使用して、麻酔下のラットの膝蓋腱の横断面・縦断面の描出が可能であり、筋組織の識別および坐骨神経などの描出が可能であることを確認した。これらの結果、超音波ガイド下での薬液注入や膝蓋腱の非侵襲的縦断評価など、本研究の独自性を担保する手技が可能と判断できた。確立された手技を用いて、筋損傷モデルおよび神経剥離などを再現性高く作成可能であり、本研究の重要な成果の一つと考えている。

(2) 膝蓋腱採取に骨切除を併用した場合、膝蓋腱の治療は、大きな影響を受ける（図1、2）

膝蓋腱の治療/再生には膝蓋腱のみの切除と膝蓋骨と膝蓋骨を同時に切除したモデルを比較した場合には明らかな治療様式の違いを認めた。具体的には、膝蓋骨を同時に切除した群では、再生組織の volume が大きいだけでなく、残存腱組織の肥大が認められた。これは、ヒト膝蓋腱（膝蓋骨・脛骨骨片を含む）採取後の超音波画像と同様の変化であり、本モデルが疾患モデルとして適当であることが示唆される（参考文献1）。また、再生組織と残存腱の連続性（integration）に関しても明らかな差異を認めた。膝蓋腱のみ採取した群では組織の非連続部を認めた個体が無い一方で、膝蓋腱に骨切除を追加した場合は、再生組織と残存

腱組織との明らかな非連続部が存在した。

これらの結果は、手術で骨付き膝蓋腱を採取した場合の採取部の処置の重要性を示唆している。今回比較した二つのモデルのいずれの治癒過程が臨床上望ましいのかは、より詳細な生物学的およびバイオメカニクスの観点からの検討が必要である。骨切除部を含めた採取部への人工物移植の報告は複数あり、多くは良好な臨床成績が示されているが、より科学的な検証をもって、広く用いられるべき手技であると考えられる。

(3) 膝蓋腱治癒過程における組織像の変化は、超音波画像での描出が可能であった (図 2)

二つの腱障害モデルを処置後 3 か月間、超音波画像で観察した。組織像を基準に比較すると、膝蓋腱採取モデルでは、経過中に漸次残存腱および採取部は低エコーを示すようになり、徐々に組織間の識別が困難となった。その一方で、骨付き膝蓋腱採取モデルでは、肥大した残存腱は持続して高エコーを示し、その間にやや低エコーの再生組織と思われる像が観察された。腱組織に関して、超音波で描出される画像と組織像を比較した既存の報告は少なく、エコー画像を解釈するうえで重要な知見である。

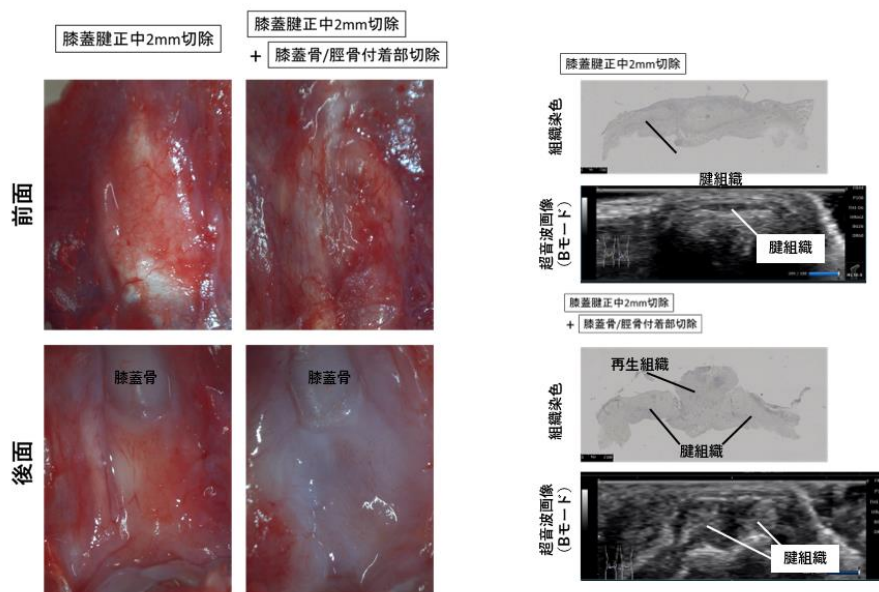


図1. 骨切除の有無による膝蓋腱治癒の比較 (切除後 3か月)

図2. 組織像と超音波画像の比較 (切除後 3か月)

(4) トレッドミル走行負荷は、膝蓋腱組織治癒に明らかな影響を示さなかった (図 3)

膝蓋骨障害モデルの超音波評価が可能と判断したため、膝蓋腱切除モデル (20 週齢ラット) を用いて、トレッドミル走行負荷 (15m/s、1 時間/day、5 日/週) の効果を検討した。自発活動量を処置前、処置後 1 か月、処置後 6 か月に評価した。まず、処置による活動量の影響は、認めなかった。トレッドミル走行負荷の影響としては、統計学的な有意差はなかったが、走行負荷群で自発活動量が維持されるという結果となった。膝蓋腱の治癒過程は、エコー所見での差異は認めず、HE 染色による組織評価でも明らかな差異は無かった。

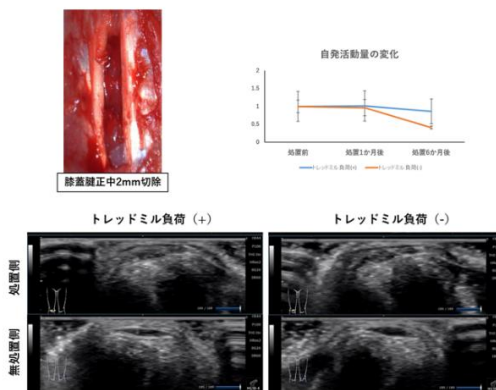


図3. トレッドミル走行負荷が膝蓋腱治癒に与える影響 (切除後 6か月)

引用文献

① Sex Differences in the Residual Patellar Tendon After Harvesting Its Central Third for Anterior Cruciate Ligament Reconstruction. Kanamoto T et al., J Ultrasound Med. 2018

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 金本隆司、内田良平、塩崎嘉樹、堀部秀二
2. 発表標題 骨付き膝蓋腱採取後の膝蓋骨骨欠損部の術後エコー評価
3. 学会等名 第30回日本整形外科超音波学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 金本隆司
2. 発表標題 骨付き膝蓋腱採取部には腱様パターンを有する組織が新生される
3. 学会等名 日本関節鏡・膝・スポーツ整形外科学会
4. 発表年 2018年

〔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
---------------------------	-----------------------	----