

自己評価報告書

平成 23 年 5 月 9 日現在

機関番号：37104

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2011

課題番号：20591769

研究課題名 (和文) 膝関節再建術における正常の骨—靭帯移行部再現に必要な術式および生物活性物質の研究

研究課題名 (英文) A study of the operation method and biological factors that is necessary for reproduction of the normal bone-ligament junction.

研究代表者

副島 崇 (SOEJIMA TAKASHI)

久留米大学・医学部・講師

研究者番号：90279208

研究分野：膝関節外科・スポーツ整形外科

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・整形外科

キーワード：膝、靭帯、再建術、骨—靭帯移行部、ACL、PCL

1. 研究計画の概要

正常の骨—靭帯付着部の構造を再現するため、以下の3つの実験を計画した。

- (1) 実験 1：胎生期発生～出生後器官形成過程における骨—靭帯移行部の組織学的検証。妊娠ラットを用いて、胎生期の軟骨原基から ACL/PCL が独立していく過程を妊娠・出生週数ごとに免疫組織学的に観察する。
- (2) 実験 2：骨孔をあけない靭帯再建術の実験。日本白色家兎を用いて、脛骨の靭帯付着部中央に移植腱の直径で皮質骨のみを研磨除去し、そこに、同側より採取した半腱様筋腱を2つ折りとして、数本の糸で独自の方法で pullout 固定とする。術後 2, 4, 8 週、3. 6, 12 ヶ月で屠殺し免疫組織学的に観察する。
- (3) 実験 3：実験 1 の結果より予想される必要な因子を実験 2 の靭帯再建モデルに導入する。

2. 研究の進捗状況

実験 1、2、3 のそれぞれの進捗状況を以下に示す。

- (1) 実験 1：胎生期では、紡錘形細胞の凝集とその不規則な配列を認めるのみで、生後に、線維芽細胞とその細胞外基質が規則的な配列を認めたが、生後 2 週までは靭帯は骨端核に直接接着する形で 4 層構造の構築は認めなかった。3 週以降、骨端核での骨化の収束と同時に、I 型コラーゲンで構成される線維の骨内への錨着が生じ、靭帯側では軟骨細胞様の卵形細胞が線維方向に高度に配列し 4 層構造を構築し始めた。骨端核の内軟骨性骨化機序が靭帯線維を取り込んでいく過程

で、付着部近傍の肥大軟骨細胞はその形質を維持しつつ、同時に靭帯側では紡錘形から卵形へと細胞の形質転換と再配列が生じ、4 層構造が構築されるようであった。この間、全域で Sox-9 の発現が観察された。この 2 相的な接着機序には Sox-9 の発現と肥大軟骨細胞～靭帯細胞の双方に分化可能な細胞が重要な役割を演じていると考えられた。

- (2) 実験 2：骨孔をあけずに、靭帯付着部の皮質骨のみを除去し、そこへ移植腱を圧迫固定した場合、骨孔法の側壁で生じる線維性錨着が、固定底部で移植腱の線維方向に一致して生じ、より後方部では一部ではあるが軟骨性錨着が認められた。正常の 4 層構造こそ構築できなかったものの従来の骨孔法よりも、錨着線維の方向と移植腱の方向が一致している事、一部で軟骨性錨着も見られる事は大きな利点であると思われた。
- (3) 実験 3：実験 2 の靭帯再建モデルに、コラーゲンスポンジを担体として Sox-9 の導入を試みた。その結果、導入前よりも軟骨性の接着部位が増加はしたが、限定的でやはり正常の 4 層構造を構築する事はできなかった。Sox-9 には一定の効果は見られたが、おそらく、その場に存在する骨髄由来細胞だけでは不十分で、肥大軟骨細胞～靭帯細胞の双方に分化可能な細胞を人為的に導入する必要があると思われた。

3. 現在までの達成度

- ③ やや遅れている
(理由)

実験 1 および 2 は目的通り終了し結果が得

られている。実験3も当初の計画通りに実験は終わっているが、結果は十分なものではなく、更なる追加実験が必要と考えられ、現在進行中である。

4. 今後の研究の推進方策

Sox-9には一定の効果は見られたが、その場に存在する骨髄由来細胞だけでは不十分で、肥大軟骨細胞～靭帯細胞の双方に分化可能な細胞を人為的に導入する必要があると思われる。現在、骨髄血由来幹細胞の培養を行い、その導入実験をすでに開始している。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

- ① M. Katouda, T. Soejima, T. Kanazawa, et al. Relationship between thickness of the anteromedial bundle and thickness of the posterolateral bundle in the normal ACL Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc. Online First. Feb 8 [Epub ahead of print] 2011. 査読あり

[学会発表] (計4件)

- ① 野山めぐみ、副島崇ほか ラット膝前十字靭帯付着部の器官形成期における組織学的変化. 第24回日本整形外科学会基礎学術集会、2009年
- ② 金澤知之進、副島崇ほか 骨一移植腱間錨着の免疫組織学的検討. 第24回日本整形外科学会基礎学術集会(パネルディスカッション)、2009年
- ③ M. Noyama, T. Soejima, T. Kanazawa et al. Immunohistological changes of the tibial insertion site of ACL in the organogenetic period of the rat. 14th ESSKA Congress 2010
- ④ T. Soejima et al. Results of the triple and double bundle PCL reconstruction in the multiple-ligament injured knee. 14th ESSKA Congress 2010