

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09406

研究課題名(和文) 靱帯分泌組織による靱帯再生能および治癒促進効果の解明

研究課題名(英文) The ability of Ligament gel to regenerate ligaments and promote healing

研究代表者

中瀬 順介 (Nakase, Junsuke)

金沢大学・附属病院・助教

研究者番号：50584843

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)：靱帯由来のゲルと腱由来のゲル(テンドンゲル)は生体保存期間が長いほど成熟度が高くなることがわかった。これは、生体保存期間が短いゲルは線維の配向性を持たず、再生医療材料として適していると言える。一方で、靱帯由来のゲルはテンドンゲルに比して生産量が少ないことがわかり、テンドンゲルによる研究を進めるきっかけとなった。ウサギ内側側副靱帯断裂モデルにテンドンゲルを投与して組織学的検討と力学試験を行った。その結果、術後2週目の検体でテンドンゲル群がコントロール群に比べ、剛性が1.7倍、破断強度は2.9倍に上昇していた。以上より、生体保存期間3日のテンドンゲルは内側側副靱帯の治癒を促進した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果の学術的社会的意義としては、腱断端から分泌されるゲル状物質(テンドンゲル)が、再生医療材料として使用できる可能性を示したことである。具体的には、靱帯修復期間を2週間短縮させる可能性がある。テンドンゲルの成分解析は進行中であるが、膠原線維のもとと考えることが出来るため、靱帯や腱組織に対する新しい再生医療材料となりうる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：The maturity of ligament and tendon gels was found to increase with longer storage time. On the other hand, ligament gels were found to be less productive than tendon gels. This was thought to be one of the reasons why ligaments were less likely to heal than tendons, and led to further research using tendon gel rather than ligament gel. Based on the above, we concluded that tendon gel is suitable for repairing ligament tissue, and conducted histological and mechanical evaluation using tendon gel in a rabbit medial collateral ligament tear model. The results showed that the collagen fibers regenerated faster in the tendon gel group, and the stiffness and tensile strength of the tendon gel group increased 1.7 and 2.9 times, respectively, compared to the control group in the specimens at 2 weeks after surgery. These results indicate that tendon gel with a storage period of 3 days promotes healing of the medial collateral ligament.

研究分野：再生医療

キーワード：靱帯断裂 再生医療 テンドンゲル

1. 研究開始当初の背景

靭帯断裂の治療には保存治療や縫合術、再建術などの手術治療が挙げられる。関節包内靭帯では、関節液などが治癒阻害因子となり、自然治癒や縫合術の治療成績が不良であることから、別組織を用いた靭帯再建術が行われる。腱や靭帯は、断裂した際、断端からゲル状組織を分泌し、コラーゲン線維を形成することで再生していく。この再生過程には、腱・靭帯そのものによる内因性修復による再生過程と、血管新生などを介し、瘢痕組織による外因性修復による過程が存在し、生体内ではそれらが混在している。近年、腱や靭帯断裂の治療に再生医療が注目されてきたことを受け、申請者は生体が本来兼ね備えている腱・靭帯の再生能力とその能力を最大限に引き出せる環境に注目し、「腱固有の再生能力(固有再生能)」について、マウスとウサギのアキレス腱を用いて、1)内因性再生過程と、2)ゲル状分泌組織への引張応力の印加による腱再生過程を明らかにしてきた。

膝前十字靭帯に代表される関節包内靭帯は自然治癒することは少なく、縫合術の治療成績も不良であることから別組織を用いた再建術が行われる。保存治療、縫合術のどちらにおいても靭帯の再生は重要な過程であるが、これまで十分検討されていない。申請者は組織自身が持つ治癒再生能力(固有再生能)とそれを最大限に引き出すための理想的な環境に着目し、独自に考案したフィルムモデル法と引張力印加により、マウスやウサギ腱組織における固有再生能の経時的变化を明らかにし、ウサギ内側側副靭帯断端からも同様のゲル状分泌組織が生じていることを確認した。本研究ではこれまでの知見を基に、ウサギ膝内側側副靭帯と前十字靭帯断端から生じるゲル状分泌組織が靭帯に再生するために理想的な修復環境に着目する。具体的には、ゲル状分泌組織の産生時期や組織学的特徴を明らかにし、フィルムモデル法やシリコンチューブ法を用いて、膝関節包内・外靭帯の治癒促進効果を見いだす。

2. 研究の目的

本研究の目的は、ウサギ膝内側側副靭帯と前十字靭帯断端から生じるゲル状分泌組織が靭帯に再生するための理想的な修復環境に着目し、ゲル状分泌組織の産生時期や組織学的特徴を明らかにすることと、靭帯縫合モデルを用いて、引張力印加による固有再生能を観察し、靭帯の治癒促進効果あるいは治癒過程の改変を見いだすことである。本研究の特色は、フィルムモデル法とシリコンチューブ法による内因性再生過程の観察をウサギ膝内側側副靭帯と前十字靭帯断裂モデルを用いて行うことである。

本研究の独自の・独創的な点としては、靭帯断端から得られるゲル状分泌組織に独自の介入を行い、これまで臨床において保存療法や縫合術が困難とされてきた膝関節包内靭帯(前十字靭帯)の再生過程の解明を目指すこととシリコンチューブ法を応用して膝関節包内靭帯縫合術の可能性を検討することである。本研究により中型動物における膝関節包内・外靭帯固有再生能が明確になることが、今後の臨床応用へのステップアップにつながり、将来的には膝関節包内・外靭帯断裂に対して自家腱による再建手術ではなく、保存治療もしくは縫合術による靭帯機能の再生の一步としたい。

3. 研究の方法

本研究ではまずウサギ膝内側側副靭帯と前十字靭帯断端からのゲル状分泌組織の違いと理想的な再生環境を解明する。その後これらから得られた知見を基にして、in vivoでの介入を行い内因性再生のみによる靭帯治癒促進効果について解明する。

- 1) 生体材料の産生方法の最適化
- 2) ゲル状分泌組織の成熟条件、介入条件の確立
- 3) 内因性再生のみによる靭帯治癒促進効果の検討

4. 研究成果

1) ウサギ内側側副靭帯由来のゲルの組織学的評価

生体保存期間3日、5日、10日、15日それぞれ5羽で検討した。組織学的成熟度は、HE染色で靭帯とゲルの結合数、ゲルの円形核細胞/扁平核細胞比、靭帯とゲルの結合部の細胞数/ゲル中央部の細胞比、EVG染色で、ゲルの染色濃度を評点し、比較した。成熟度は3日群で 1.6 ± 0.9 点、5日群で 2.0 ± 1.2 点、10日群で 3.6 ± 1.1 点、15日群で 5.0 ± 0.7 点であり、生体温存期間10日以降のゲルは3日のゲルに比べ、有意に成熟していた。本結果は、ウサギアキレス腱由来のゲルから得られた結果と類似し、腱由来ゲルと靭帯由来ゲルは同じような成熟過程を経ると考えられた。

一方で、引張力印加によるゲルの変化については、予定検体数を実験したが、非常にばらつきが大きい結果となった。これは、内側側副靭帯由来のゲルはアキレス腱由来のゲルに比べて生成されるゲル量が少なく、引張試験を施行するに満たない可能性が考えられた。

- 2) アキレス腱由来のゲルにまつわる先行研究では、生体温存期間が短いゲルに引張力を印加す

ると、組織学的に成熟した正常腱に近いコラーゲン線維に変化する、すなわち生体温存期間が短いゲルは固有再生能が高いことが明らかになった。本研究ではこの結果に準じて、生体温存期間3日のゲルを内側側副靭帯縫合モデルに添加し、ゲルの靭帯治癒促進効果の評価を行うことにした。

また、腱断端からのゲル状組織の分泌量が少ないことによりシリコンチューブ法による検討も不可能となった。

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
研究分担者	鳥越 甲順 (Torigoe Kojun) (50126603)	福井医療大学・保健医療学部・教授 (33404)	
研究分担者	葛巻 徹 (Kuzumaki Toru) (50396909)	東海大学・工学部・教授 (32644)	

	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
研究協力者	石田 善浩 (Ishida Yoshihiro)		
研究協力者	水野 雄伸 (Mizuno Yushin)		

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
---------	---------