

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09279

研究課題名（和文）内側半月板後根断裂の治癒促進と膝関節軟骨変性の抑制

研究課題名（英文）Promotion of healing after medial meniscus posterior root repair

研究代表者

古松 毅之（Furumatsu, Takayuki）

岡山大学・大学病院・講師

研究者番号：20432651

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）：人工膝関節置換術（TKAもしくはUKA）の際に採取した内側半月板と膝関節軟骨から、それぞれ半月板細胞と軟骨細胞を分離・培養した。得られた半月板細胞は線維芽細胞様の形質と一部に軟骨細胞様の形質を維持していた。得られた軟骨細胞におけるII型コラーゲン・SOX9の発現も確認された。超音波刺激下における細胞増殖能には半月板細胞・軟骨細胞ともに変化が認められなかった。一方で、内側半月板後根付着部周囲の組織から採取したroot細胞は、半月板実質部のmeniscus細胞と異なる形質を維持していることが確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

内側半月板後根断裂（medial meniscus posterior root tear, MMPRT）は中高年者に好発する半月板損傷である。MMPRT受傷後、比較的早い段階で診断され、関節鏡下半月板縫合術の適応を満たす場合には、pullout修復術の術後臨床成績は良好である。MMPRTの診断・手術法などに関しては多くの知見が集まり、一定のコンセンサスが得られつつある。しかし、pullout修復術後に少しでも組織修復を促進させる技術は確立していない。本研究は、半月板後根細胞を超音波刺激により活性化することで組織修復を促進させ、手術後の臨床成績を改善させることを目的とした。

研究成果の概要（英文）：Meniscal cells and chondrocytes were isolated and cultured from the medial meniscus and knee articular cartilage. The obtained meniscal cells maintained fibroblast-like characteristics and showed chondrocyte-like characteristics. Gene expression of type II collagen and SOX9 in the obtained chondrocytes was also confirmed. No changes were observed in the cell proliferation ability of both meniscal cells and chondrocytes under ultrasound stimulation. On the other hand, it was confirmed that the root cells obtained from the tissue around the posterior root attachment of the medial meniscus maintained different characteristics from the meniscus cells obtained from meniscal body.

研究分野：整形外科学

キーワード：半月板 関節軟骨 超音波

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 内側半月板後根断裂とは・・・

内側半月板後根断裂 (medial meniscus posterior root tear, MMPRT) は中高年者、特に女性に好発する半月板損傷である。MMPRT に占める女性の割合は、男性の約 4 倍と報告されている。また、階段を下りる、段差を下りる、坂道を下る、散歩をする、小走りをする、椅子から立ち上がるなどの単純な日常生活動作で発生することがほとんどである。

MMPRT 受傷の際には、突発的な膝後内側部痛 (posteromedial painful popping) をきたし、動けなくなることが多い。しかし、しばらく安静にしていると動けるようになるため治ってしまったかのような錯覚に陥り、医療機関を受診することを見送ってしまうケースも認められる。

(2) MMPRT の病態

MMPRT を放置する、もしくは正確に診断がなされないまま経過観察した場合には、短期間で膝関節機能が大きく低下してしまうことが明らかとなっている。MMPRT の受傷後には、膝軟骨下骨脆弱性骨折 (subchondral insufficiency fracture of the knee, SIFK) やこれまで原因不明と考えられてきた特発性膝骨壊死 (spontaneous osteonecrosis of the knee, SONK) といった深刻な病態に進行する危険性が増加するとともに、変形性膝関節症が急速に増悪してしまい、数年後には人工膝関節置換術 (total knee arthroplasty, TKA) を余儀なくされるケースが少なからず存在することが明らかとなりつつある。

(3) MMPRT に対する治療

MMPRT を保存的に経過観察した場合、その臨床成績は満足すべきものではないことが数多く報告されている。MMPRT 受傷後に比較的早い段階で正確に診断され、かつ関節鏡下半月板縫合術の適応を満たす場合には、膝関節機能を長期間にわたって維持・改善するために pullout 修復術が勧められる。

内側半月板の後角に縫合糸を貫通させ、内側半月板後根付着部に設置した脛骨骨孔からそれらの縫合糸を引き出して固定する「関節鏡下半月板制動術 (pullout 修復術)」の術後臨床成績は良好である。

2. 研究の目的

MMPRT の診断・手術法などに関しては多くの知見が集まり、一定のコンセンサスが得られつつある。しかし、pullout 修復術後に少しでも組織修復を促進させる技術は確立していない。

現在、MMPRT の多くが見逃されているか未治療のまま放置されており、進行期の変形性膝関節症、膝軟骨下骨脆弱性骨折、もしくはこれまで特発性膝骨壊死とされていた病態に陥った段階で治療介入がなされる傾向にある。本研究はこのような現状に警鐘を鳴らすとともに、膝関節診療のエキスパートでなくとも迅速に治療介入するための補足的治療法を開発し、その有効性がどのようなメカニズムで発揮されるのかを細胞生物学的に明らかにする独創的な研究である。

本研究は、内側半月板後根断裂の受傷後に進行する半月板・軟骨変性を超音波刺激により抑制し、半月板後根細胞を超音波刺激により活性化することで組織修復を促進させ、半月板修復術後の臨床成績をさらに改善させることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 超音波刺激による内側半月板付着部細胞・関節軟骨細胞の活性化

人工膝関節置換術の際に破棄される内側半月板後方付着部から細胞を分離・培養する。同時に、関節症性変化が少ないと予想される外側大腿骨顆部から関節軟骨細胞を分離・培養する。伊藤超短波社の Osteotron V 装置を用いた LIPUS 刺激環境下における半月板付着部細胞・関節軟骨細胞の増殖能と遊走能を、それぞれ WST-1 assay、Boyden chamber を用いた migration assay により解析する。また、LIPUS 刺激による細胞外物質を構成する type I/II/III collagen・aggrecan などの mRNA 発現変化を real-time PCR により検討する。タンパク産生量の変化は免疫染色・western blot により解析する。同様に、SOX9 などの転写因子、CCN2 などの成長因子の発現も比較検討する。

本検討により、両細胞に対する超音波刺激強度・頻度の最適化を図る。

4 . 研究成果

(1) 培養細胞の解析

人工膝関節置換術 (TKA もしくは unicompartamental knee arthroplasty, UKA) の際に採取した内側半月板と膝関節軟骨から、それぞれ半月板細胞と軟骨細胞を分離・培養した。

初代培養から P2 まで継代培養を行い、細胞増殖能・遺伝子発現の変化を比較検討した。それぞれの細胞において、細胞増殖能は継代ごとに維持されており、P2 までの継代操作による悪影響は認められなかった。継代培養により得られた半月板細胞は線維芽細胞様の形質と一部に軟骨細胞様の形質を維持していた。

得られた軟骨細胞における II 型コラーゲン・SOX9 の発現も確認された。しかし、軟骨細胞に特異的に発現しているとされる転写因子 SOX9 や、その SOX9 に発現を制御される II 型コラーゲンは、継代培養により容易にそれらの発現量が減少してしまう。そのため、継代数と培養期間の厳密な管理が必要であった。

(2) 超音波刺激による細胞活性化

超音波刺激下における細胞増殖能には半月板細胞・軟骨細胞ともに変化が認められなかった。II 型コラーゲン・SOX9 の mRNA 発現における変化を、RT-PCR、および real-time PCR を用いて比較検討したが、有意な差は認められなかった。

一方で、内側半月板後根付着部周囲の組織から採取した root 細胞は、半月板実質部より採取された meniscus 細胞と異なる形質を維持していることが確認された。Root 細胞の形質は靱帯・腱などを構成する線維芽細胞に近いものと推察された。Root 細胞の増殖活性は、meniscus 細胞・軟骨細胞よりも高いという結果が得られた。

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

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