

平成 22年 3月 9日現在

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2007～2009

課題番号：19591733

研究課題名（和文） 膝関節アライメントを変えることで生じた力学的負荷の変化が関節軟骨に与える影響

研究課題名（英文） How dose the alteration in mechanical load due to change of alignment influence articular cartilage of knee joint

研究代表者

占部 憲 (URABE KEN)

北里大学・医学部・准教授

研究者番号：90284489

研究成果の概要（和文）：多くの高齢者が罹患している変形性膝関節症の原因や治療を理解するうえで、膝関節のアライメントが変わることによって生じた力学的負荷の変化が関節軟骨にどのような変化を与えるかを知ることは重要である。本研究では関節外で膝関節のアライメントを変えて変形性膝関節症を生じる動物モデルの作成は不成功に終わった。しかし変形性膝関節症自然発症マウスでは、脛骨の捻じれによる膝関節のアライメントの変化が、変形性関節症発症の原因の1つであることが示された。

研究成果の概要（英文）：It is very important to understand how the alteration in mechanical load due to change of alignment influences articular cartilage of knee joint. In this study we could not establish the animal model that had an onset of osteoarthritis (OA) of knee joint by change of knee alignment. However, we found that OA changes of the patellofemoral joint in STR/OrtCrlj mice that spontaneously developed knee OA may be caused by internal tibial torsion.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・整形外科学

キーワード：四肢機能再建学

1. 研究開始当初の背景

(1) 平成 13 年国民生活基礎調査によると、本邦の要介護の原因の中で関節疾患は 11% を占めている。そのなかで変形性膝関節症は最も頻度が高く、本邦の疫学調査では 65 歳以上で 30%、75 歳以上では 37% が罹患しており、加齢に伴い罹患率が増加することが示されている（須藤ら、整形外科 50, 1999）。わが国の高齢化は急速に進んでおり、変形性膝関節症患者が増加することは明らかである。そのためこの疾患の病態を理解し、適切な保存的あるいは手術的治療を行うことは、本疾患により要介護となる患者を救済していくために必要不可欠である。

(2) しかし関節軟骨の変形性変化がどの段階まではどのような保存的・手術的治療により修復が可能であるか（可逆性があるか）、どの段階を超えるとその後の変形性変化の進行を阻止することができないのかについてはいまだ明らかになっていない。その原因のひとつに、適切な変形性関節症の動物モデルが存在しないことが上げられる。

2. 研究の目的

(1) 日本白色家兔を用いて、関節内に侵襲を加えずに関節軟骨の変形性変化を生じる動物モデルを確立する。膝関節外で骨切り術を行うことで膝関節のアライメントを変化させ、関節内に直接侵襲を加えることなく変形性変化を発生させる。

(2) 変形性膝関節症自然発症マウスが変形性膝関節症を発症する原因が膝関節外のアライメントの変化であることを示し、今後このマウスを使用して変形性膝関節症の病態や治療に関する研究を行うための基礎データを蓄積する。

3. 研究の方法

(1) 動物モデルの確立：日本白色家兔（雄、約 3kg）の脛骨に各種の骨切り術を行う（外反骨切り術、内反骨切り術、脛骨粗面移動術。術後 2、4、6、8、12 週で膝関節の変形性変化を関節軟骨の外観、X 線検査、組織学的検査で評価する。

1) 脛骨の骨切り術によって膝関節アライメントを変えた家兔の作成

① 対象：日本白色家兔、雄、2.5～3.0 kg。

骨切り群：両側骨切りを行なう（骨切り部に 20 度のウエッジを挿入）。

コントロール群：両側骨切りのみを行なう（ウエッジは挿入しない）。

② 手術方法：

・ネブタール耳静脈麻酔と 1% リドカインを用いた局所麻酔を併用。

・脛骨内側を関節面から約 2cm 縦切開、レントゲン透視下で骨切り部を確認後切骨。ポリエチレンで作成した 20 度のウエッジを骨切り部に挿入。

1.0mm の軟鋼線で作成したステイプル 2 本で固定、各層縫合し手術を終了。

・術後ケージ内で自由に荷重させる。

2) 関節軟骨の評価

① 評価スケジュールと数

- ・術後2、4、6、8、12週で屠殺し両側を評価。各週、各群とも7匹使用。

②評価方法

- ・関節軟骨の概観の評価 (Sonoda, Am J Sport Med 25, 1997)
- ・エックス線学的評価：軟エックス線で膝関節側面像を撮影 (Pellerier, Arth. & Rhem. 32, 1989)
- ・組織学的評価
 - (1) 切片を作成 (Yoshimi, COOR 298, 1994)。
 - (2) HE染色とSafranin O染色で関節軟骨の変性を評価。
 - (3) 免疫染色：II, IX, XI型コラーゲンおよびMMP-13の免疫染色で軟骨変性を評価する。

(2) 変形性膝関節症自然発症マウスの評価：5, 10, 15, 20, 25, 35, 45 週齢の変形性膝関節症自然発症マウス (STR/OrtCrly mice) の膝関節を X 線検査、組織学的検査で評価する。組織学的評価では膝蓋大腿関節と大腿脛骨関節を評価する。また脛骨形状の評価には、膝関節から足関節までの CT を撮影して評価する。

4. 研究成果

(1) 動物モデルの確立：

1. 脛骨外反骨切りモデルの評価

①モデルの作成方法

日本白色家兎の雄3.0 kgを使用し、両側の脛骨外反骨切りモデルを作成した。脛骨内側を関節面から約2cm縦切開、レントゲン透視下で骨切り部を確認後切骨し、ポリエチレンで作成した20度のウェッジを骨切り部に挿入した。1.0mm の軟鋼線で作成したステイプル2本で固定し各層縫合し手術を終了した。術後ケージ内で自由に荷重させた。

②変形性関節症発症の評価

術後4、8、12週で屠殺し、両側脛骨を採取した。肉眼所見、軟エックス線所見、HE染色による組織学的評価を行ったが、各週で変形性膝関節症は発症していなかった。

2. 脛骨外反骨切り術+内側側副靭帯剥離モデルの評価

本研究の目的は、従来の関節内操作を行うことによって変形性関節症を生じさせるのではなく、関節に直接手術操作を加えることな

く変形性関節症を生じさせることである。実験1においてアライメントの変化だけでは変形性膝関節症が発症しなかったことから、外反骨切り術に関節外での内側側副靭帯剥離を加え、膝関節の不安定性を生じさせた。

①モデルの作成方法

実験1の①と同様の方法で外反骨切り術を行い、ステイプル固定後脛骨顆部から内側側副靭帯を剥離した。

②変形性関節症発症の評価

術後 4、8、12 週で屠殺し、両側脛骨を採取した。肉眼所見、軟エックス線所見、HE 染色による組織学的評価を行ったが、各週で変形性膝関節症は発症していなかった。

2. 脛骨内反骨切りモデル及び脛骨粗面移動術の評価

脛骨外反骨切りモデルで変形性変化がわからない理由の1つとして、日本白色家兎は股関節屈曲・外転・外旋位、膝関節屈曲位であるため、膝外反位では膝関節外側への負荷の増加は少ない可能性が考えられた。そのため1. の実験において、脛骨外側から骨切りを行う内反骨切りモデルを作成した。術後 4、8、12 週で屠殺し、両側脛骨を採取した。肉眼所見、軟エックス線所見、HE 染色による組織学的評価を行ったが、各週で変形性膝関節症は発症していなかった。X線の詳細な評価では、骨切り角度が経時的に減少しており、挿入したポリエチレンの軽度逸脱が認められ、open wedge osteotomy でアライメントを長期に矯正することは困難であることが示された。また脛骨粗面移動術モデルも作製したが、変形性変化は認められなかった。

以上の実験から、膝関節外でのアライメントを矯正することで日本白色家兎の膝関節の変形性関節症を発症させることは困難であることが示された。今後は運動負荷などを加えることによって、変形性関節症が発症するかどうかを検討していく必要がある。

(2) 変形性膝関節症自然発症マウスの評価：

1. 軟 X 線による評価

変形性膝関節症の評価項目は、関節裂隙の狭小化、軟骨下骨の硬化、骨棘形成、関節周囲の石灰化・骨化、膝蓋骨の脱臼・形態変化、大腿脛骨関節の脱臼・偏位として、これら項目の有無を評価した。その結果、軟 X 線像異常所見は雄 STR/OrtCrlj の 35 週齢以降で陽性率が高く、これまでの報告と相違無かった。

2. 組織学的評価

①大腿脛骨関節の評価

矢状断面で薄切切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン染色およびサフラニン O 染色を行い、評価は Mankin's Histological Histochemical Grading を用いた。その結果、26 週齢以降で異常所見陽性率が高かった。組織学的異常所見は、脛骨側前十字靭帯附着部関節軟骨と大腿脛骨関節の内側関節軟骨において早期から検出されるものの個体差と左右差が認められ、これまでの報告内容と相違しなかった。

②膝蓋大腿関節の評価

膝蓋大腿関節と成長軟骨版が 1 つの切片で見ることができるよう切片を作成し、①と同様に染色して評価した。その結果 10 週齢、20 週齢から膝蓋大腿関節の大腿関節軟骨組織の異常所見が個体差、左右差なく認められた。特に、細胞勾配、細胞密度の変化とサフラニン O 染色性の低下が再現性よく観察された。

3. 骨形態学的評価

雄 STR/OrtCrlj 35 週齢以降の膝関節では、10%前後の発生頻度で膝蓋内側恒久性脱臼が発生すること、また組織学的に膝蓋大腿関節の変形性変化が再現性よく発症する原因を骨形態学的に評価したところ、脛骨の内捻がその原因の 1 つであると考えられた。今後はこの変形性膝関節症自然発症マウス

を用いて、変形性膝関節症の進行予防のための保存療法である運動療法やヒアルロン酸の関節内投与の影響を評価していく予定である。

5. 主な発表論文等

(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 3 件)

1. Naruse K, Urabe K, Jiang SX, Uchida K, Kozai Y, Minehara H, Mikuni-Takagaki Y, Kashima I, Itoman M. :Osteoarthritic changes of the patellofemoral joint in STR/OrtCrlj mice are the earliest detectable changes and may be caused by internal tibial torsion. Connect Tissue Res. 2009;50(4):243-55. 査読有

2. Uchida K, Urabe K, Naruse K, Ogawa Z, Mabuchi K, Itoman M. :Hyperlipidemia and hyperinsulinemia in the spontaneous osteoarthritis mouse model, STR/Ort. Exp Anim. 58(2):181-7, 2009. 査読有

3. 成瀬康治、占部憲、糸満盛憲 変形性膝関節症を自然発症する STR/OrtCrlj マウスの軟 X 線像による形態学的検討および組織学的検討 別冊整形外科 NO.53 : 14-18, 2008. 査読有

[学会発表] (計 2 件)

1. 成瀬康治、STR/OrtCrlj の変形性変化は、膝蓋大腿関節に最も早期に認められ、その原因は脛骨内捻に起因する、第 21 回日本軟骨代謝学会、2008 年 3 月 21 日、京都

2. Naruse K, Abnormal tibial torsion may cause an earliest detectable deformity in STR/OrtCrlj osteoarthritis mouse model, Orthopaedic research societies, 6th

combined meeting, 2007/10/27, Hawaii

6. 研究組織

(1) 研究代表者

占部 憲 (URABE KEN)

北里大学・医学部・准教授

研究者番号 : 90284489

(2) 研究分担者

神宮司 誠也 (JINGUSHI SEIYA)

九州大学・医学部・准教授

研究者番号 : 80235829

成瀬 康治 (NARUSE KOUJI)

北里大学・医学部・講師

研究者番号 : 60276087