

令和 3 年 5 月 19 日現在

機関番号：15401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K23827

研究課題名（和文）カーボンナノチューブと吸収性コラーゲン膜を用いた人工靭帯の開発

研究課題名（英文）Development of Artificial Ligament Using Carbon Nanotubes and Absorbable Collagen Membrane

研究代表者

亀井 豪器（Kamei, Goki）

広島大学・病院（医）・助教

研究者番号：60633039

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,100,000円

研究成果の概要（和文）：主にスポーツ外傷で生じる前十字靭帯損傷に対し、わが国では自家腱を用いて再建術が行われているが、初期固定力が弱いことが問題点としてあげられる。そこで、強固な初期固定を得るためにカーボンナノチューブを使用してラットの前十字靭帯再建を行った。自家組織を使用して再建を行った例と比較し、滑膜炎が強く、強度も1/3程度であった。現時点では、前十字靭帯再建にカーボンナノチューブを使用することは困難であると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

前十字靭帯再建術は現在、自家組織を使用して行われている。しかし、自家組織を採取することによるデメリットがあるため、人工組織を用いて同様の手術を行い、同等以上の結果を得ることが期待されている。今回、新たな素材としてカーボンナノチューブを使用した。関節内での炎症を強く生じ、前十字靭帯再建に使用するには不適切な素材であることを確認した。引き続き、他の素材を用いて研究が行われることが望まれる。

研究成果の概要（英文）：Anterior cruciate ligament (ACL) injury occur mainly in sports activity, and in Japan, ACL reconstruction is performed using autologous tendons. The problem with ACL reconstruction using autologous tendon is that the initial fixation force is weak. Therefore, we performed ACL reconstruction using carbon nanotubes to obtain strong initial fixation. Rats were used for this research. Compared to the case of reconstruction using autologous tissue, the synovitis was stronger and the strength was about 1/3. At present, it is considered difficult to use carbon nanotubes for ACL reconstruction.

研究分野：整形外科

キーワード：人工靭帯 前十字靭帯損傷 前十字靭帯再建術 コラーゲン膜

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

膝前十字靭帯は頻度の多いスポーツ外傷で、アメリカでは年に20万件発生すると報告されている。一旦損傷してしまうと自然治癒することはなく、損傷したまま放置すると、半月板・軟骨に二次的な損傷を生じ、高率に関節の変形を生じる。そのため、自家組織（ハムストリング腱・膝蓋腱など）を用いて再建術を行うことが一般的な治療方針になっている。しかし、自家組織を犠牲とすること、自家組織は一旦壊死して周囲から細胞が誘導され靭帯として機能するため（初期固定が弱い）、骨孔部での癒合・靭帯として生着するまでの期間が長く、スポーツ復帰まで時間がかかる（現在は術後9～10か月で復帰させる施設が多い）ことが最大の問題点である。

そこで初期の固定力を得るための組織としてCNT、自家組織と定着させるための足場として吸収性コラーゲンメンブレンに着目した。CNTは、グラファイトシートを丸めてできる円筒状物質で直径が1nm～数十nmのものの総称であり、炭素であるため生体親和性が高く、軽量で強度に優れている。また、共同研究先であるLintec of America社が開発した、直径15μmで長さ数十mにも加工可能なCNTの撚糸cYarn®に織物技術を駆使することで、直径数mmのチューブを作成することが可能であり、人工靭帯の初期固定材料として有用である。吸収性コラーゲンメンブレンは牛アキレス腱から抽出したI型コラーゲンを圧縮したものであり、歯周病の治療に使用され、組織再生誘導法に現時点で応用されている。生体に応用済みの材料であり、靭帯の主構成因子のI型コラーゲンで構成されるため、靭帯再生の足場・再生材料として適切である。強固な初期固定を得るために、人工組織であるカーボンナノチューブ(CNT)を使用する、

早期の靭帯成熟を得るために、CNTの周囲を吸収性コラーゲンメンブレンで被覆することで、自家組織を使用した前十字靭帯再建術の問題点を解決し、新たな人工靭帯を開発できないかと考えた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、CNT(cYarn®)と吸収性コラーゲンメンブレンを用いて作成した移植腱の前十字靭帯再建術後の成熟過程・靭帯強度を解明し、前十字靭帯再建術時に使用可能な人工靭帯の開発を行うことである。これまでの人工靭帯は強度面が重視され、また疎水性であり炎症反応を起こさないなどの組織親和性もあまり考慮されず、足場としての機能が十分とはいえないものであった。共同研究機関であるLintec of America社がcYarn®およびCNT系に関する特許を有しているため、CNT系を人工靭帯素材へ応用する本研究の独自性は高い。また、吸収性コラーゲンメンブレンは靭帯再生材料として使用されておらず、先駆けの使用であり、こちらも独自性が高い。人工靭帯の開発により、前十字靭帯再建術後の治療成績の向上、リハビリ期間の短縮、早期のスポーツ復帰が可能となる。自家組織の採取が必要ないため、術後の下肢機能低下の防止、手術侵襲の軽減、手術時間の短縮が期待できる。

3. 研究の方法

ラットの前十字靭帯を切除し、大腿骨・脛骨に2mmのドリルで骨孔を作成する。CNTより作成した撚糸cYarn®の周囲を吸収性コラーゲンメンブレンで被覆して移植腱を作成、脛骨側から大腿骨孔に誘導・固定する。対象としてcYarn®のみで再建した群、同側の趾屈筋腱を採取し移植腱とした群の2群を作成する。上記が当初の予定であったが、ラットの前十字靭帯再建において、吸収性コラーゲンメンブレンで被覆することは技術的に困難であり、cYarn®のみで再建した群、同側の趾屈筋腱を採取し移植腱とした群、関節切開のみの群（正常）の3群で比較した。

(1): 移植腱の強度測定

精密荷重変位測定器を用いて測定する。再建靭帯以外の軟部組織は除去し、大腿骨 再建靭帯 脛骨のみの組織として最大破断強度を測定する。またどの部位で損傷を生じるかを評価する。当科の研究 (Kadonishi et al. JBJS-Br, 2012) では、趾屈筋腱のみの再建で術後 8 週では、80%で腱そのものが引き抜かれ、実質部での損傷は 20%であり、術後 12 週では全例実質部での損傷であった。今回の研究では、術後 4 週で cYarn®の骨孔部癒合が早期に生じ、また術後 12 週で腱実質部の強度が強くなることを期待している。

(2): 移植腱の成熟過程

H E 染色・アザン染色で移植腱の再生線維・骨孔部の癒合の評価を行う。自家組織の移植腱では 3 型コラーゲンの産生が高まり、力学的特性が劣化するといわれている。そのため、靭帯主成分であるタイプ I と劣化原因となりうるタイプ III コラーゲン発現を免疫染色で評価する。いずれも 4 週、12 週で評価を行う。

(3): 有害事象の評価

当科では、末梢神経再生・人工神経開発に CNT を応用し研究を進め、周囲組織に炎症所見などがないことを確認している。今回の研究では、関節内の有害事象評価のため、滑膜炎評価を Grande の基準に従い肉眼的に行う (Grande DA et al, J Orthop Res, 1989)

4 . 研究成果

(1): 移植腱の強度測定

4 週での評価：関節切開のみの群、自家腱を用いて再建した群では、すべてが腱実質部で破断したが、cYarn®のみで再建した群では脛骨側の骨孔癒合が不良であり、脛骨側での腱の引き抜きを認めた。関節切開のみの群は $16.6 \pm 8.2\text{N}$ 、自家腱を用いて再建した群は $15.3 \pm 6.8\text{N}$ 、cYarn®のみで再建した群は $5.86 \pm 3.0\text{N}$ であり、cYarn®は他の 2 群と比較し、有意に強度が低い結果となった。

(2): 有害事象の評価

cYarn®のみで再建した群では他の 2 群と比較し、肉眼的に滑膜炎の程度が明らかに強く、骨孔の拡大を肉眼的に確認できる程度であった。滑膜炎が強く、骨孔癒合が不良となり、引張試験での強度低下につながったと考えられる。

(3): 移植腱の成熟過程

滑膜炎が強く、関節症性変化・骨孔拡大を生じており、組織学的な評価は困難であった。

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

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