

令和 3 年 6 月 11 日現在

機関番号：24402

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K24050

研究課題名（和文）骨膜移植を併用した生物学的腱板修復促進法の開発

研究課題名（英文）Development of a method for promoting biological rotator cuff repair using peritoneal transplantation

研究代表者

市川 耕一（Ichikawa, Koichi）

大阪市立大学・大学院医学研究科・登録医

研究者番号：20780076

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）：超高齢化社会の到来を迎え、種々の運動器変性疾患は増加傾向にある。その中で肩腱板断裂は、高齢者の機能障害の一大要因であり、最適な治療法を確立することは、健康寿命延伸に直結する。本研究の目的は、骨膜移植とPRFを併用した生物学的腱板修復促進法を開発することである。組織学的評価では、Control群と比較して、骨膜+PRF併用群において、腱骨連結部の良好な修復がみられた。また、腱骨修復部修復過程のスコアリングにおいて、骨膜+PRF併用群では、Control群及びPRF単独群と比較して有意にスコアが高かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腱骨連結部の修復術時に骨膜移植とPRFを併用した報告は、基礎及び臨床の両方において認めない。修復部の力学的強度の増強と、移植骨膜からの軟骨再生及び成長因子を含んだPRFの効果によって、fibrocartilageを含んだenthesiisに特徴的な4層構造の再構築が可能になれば、より優れた術式の開発に繋がり、臨床応用に直結すると期待される。今後益々増えることが予想される整形外科の変性疾患の治療に対して大きく貢献する可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Rotator cuff tear is one of the major factor in the dysfunction of the elderly, and establishing an optimal treatment method is directly linked to the extension of healthy life expectancy.

The purpose of this study is to develop a method for promoting biological rotator cuff repair using peritoneal transplantation and PRF. In histological evaluation, good repair of the tendon bone connection was seen in the peritoneum with PRF combination group compared with the control group. In the histological scoring of the tendon bone repair, the score was significantly higher in the peritoneum with PRF combination group compared to the control group and the PRF alone group.

研究分野：整形外科

キーワード：腱骨連結部 骨膜移植 PRF 生物学的修復

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

腱断裂の大多数が tendon bone junction に起こり、その修復過程においては、正常な内軟骨性骨化は起こらず、瘢痕組織形成による修復にすぎないため、collagen の生成と変性が同時に進行する。修復初期には Type III collagen が中心に生成されるが、修復後期には Type I collagen に置換され、remodeling と maturation の過程で徐々に修復組織は完成していく。つまり、腱骨連結部を単純に縫合する現在の修復方法では、fibrocartilage を含んだ正常な 4 層構造を有する tendon と bone の insertion site を再構築することは困難である (Bedi .A et al, J Shoulder Elbow Surg 2012)。このことから、生物学的修復を促進するには何らかの促進因子が必要と考えられる。

骨膜は皮質骨の周囲をとりまく線維性組織であり、表層の fibrous layer と深層の cambium layer とから構成されている。Fibrous layer は線維性結合組織であり、ある程度の力学的強度を有する。Cambium layer は未分化間葉系細胞を多く含有しており、骨折治癒過程においては、未分化間葉系細胞が軟骨細胞へ分化増殖し、細胞外基質や各種の成長因子の産生を行っており cambium layer の細胞が関与した内軟骨性骨化は骨折治癒の重要な役割を担っている。この cambium layer の軟骨形成能力に着目し、関節軟骨欠損に対する治療目的には、骨膜移植法を用いた関節軟骨修復が既に臨床応用されている。腱骨連結部の修復術時においても骨膜移植を併用することで、Fibrous layer によって修復部の力学的強度の増強とともに、cambium layer によって内軟骨性骨化による軟骨形成が促される (Chang et al : KSSTA 2009)。また骨膜移植に併用し PRF (Plate-rich-fibrin) を使用することで、その修復効果が増強されることが期待される。PRF は成長因子 (TGF- β 、PDGF) を多く含み骨膜との併用することで Synergistic effect が報告されており (Horimizu et al : Clin Expo Dent Res 2017)、PRF 単独ではすでに肩の腱板修復に臨床使用されている。

これらの促進因子を用いることで、fibrocartilage を含んだ enthesis に特徴的な 4 層構造の再構築が可能になり、腱骨連結部の良好な修復の可能性が期待される。

2. 研究の目的

本研究の目的は、骨膜移植と PRF を併用した生物学的腱板修復促進法を開発することである。

3. 研究の方法

Japanese white rabbit (Slc:JW/CSK 3-3.4kg) を使用し、ketamine (30 mg/kg) and xylazine (10 mg/kg) で麻酔を施行した。三角筋を split し棘下筋を同定、腱骨連結部で可及的に切離を行い、footprint の搔掻を行った。3mmドリルで上腕骨大結節腱骨連結部に骨孔を作成し、1-0 エチボンドを使用し Kessler 法で棘下筋の縫着を行った。以上のようにして作成したウサギ棘下筋腱断裂修復モデル (図 1) を用いて、Control 群、骨膜単独群、PRF 単独群、骨膜 + PRF 併用群 (図 2) の 4 群に分けて腱板修復を施行した。術後 4 週で腱骨連結部の組織を採取し、組織学的評価を行った。4 週時点で pentobarbital sodium (50 mg/kg) を使用し安楽死処置を施行、4% paraformaldehyde (24 時間、4℃) で固定を行ったのち、0.5 mol/L ethylenediaminetetraacetic acid で脱灰 (5 週) を行った。標本は棘下筋長尺方向で切離を行い、パラフィン固定を施行、5 μ m スライスでスライド作成を行い、HE 染色、Masson trichrome 染色をそれぞれ施行した。腱骨修復部修復過程の評価法として Nakase らの Criteria for Grading of Tendon-Bone Healing Process (Nakase et al, Arthroscopy 2010) を使用した。統計改正として Mann-Whitney U test を使用し、P < .05 を有意差ありとした。

4. 研究成果

組織学的評価では、骨膜 + PRF 併用群において、Control 群及び PRF 単独群と比較して、腱骨連結部の良好な修復がみられ、また、骨膜 + PRF 群では腱骨連結部に軟骨様細胞の出現を認めた。(図 3,4)。腱骨修復部修復過程のスコアリングにおいて、Control 群:1.8 \pm 0.9、PRF 群:2.1 \pm 1.2、骨膜単独群:3.1 \pm 1.1、骨膜 + PRF 併用群:4.6 \pm 1.5 であり、骨膜 + PRF 併用群は Control 群及び PRF 単独群と比較して有意にスコアが高かった (図 5)。本研究の結果により、未分化間葉系細胞の豊富な骨膜と、成長因子に富んだ PRF を併用することで、腱骨連結部の修復過程において良好な影響を与える可能性が示唆された。骨膜、PRF とともに自家移植での使用が可能であり、同種移植や人工物を使用することにより生じる合併症のリスクを減少させる事が推察される。実際に臨床応用可能な手技でもあり、今後、この研究成果を臨床応用することにより、生物学的腱板修復の促進が期待される。

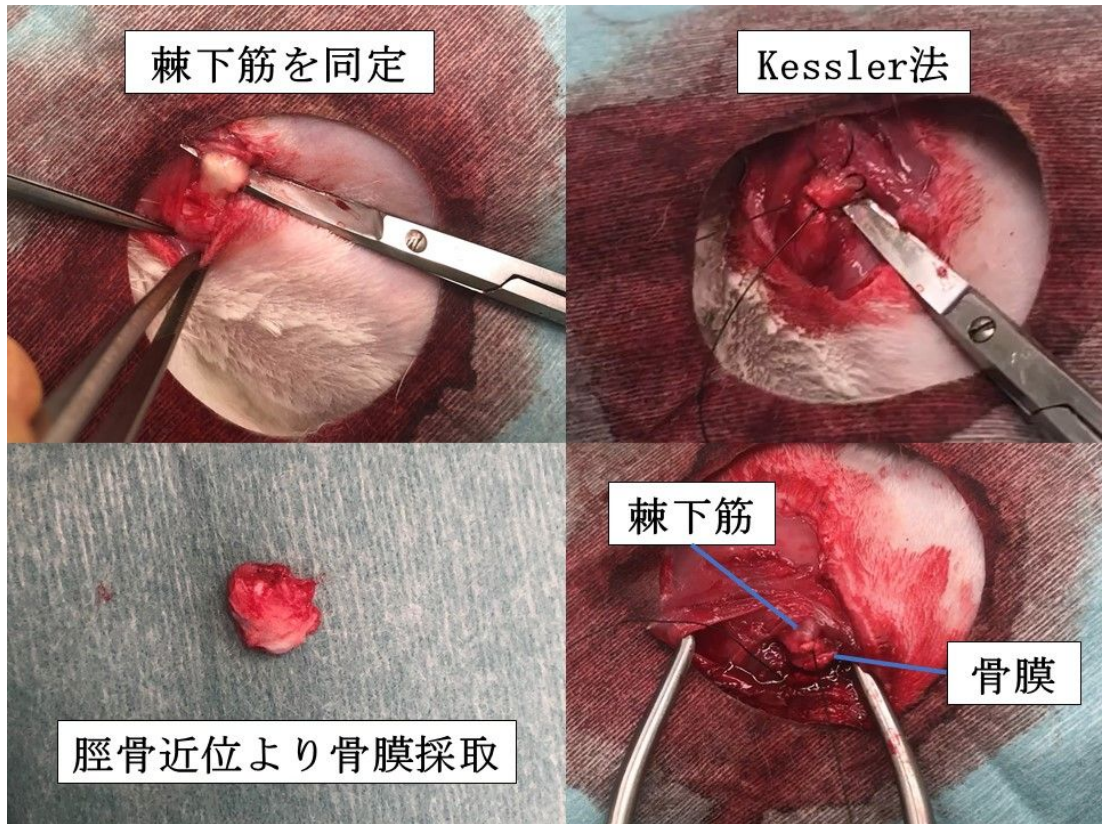


図 1 : ウサギ棘下筋腱断裂修復モデル

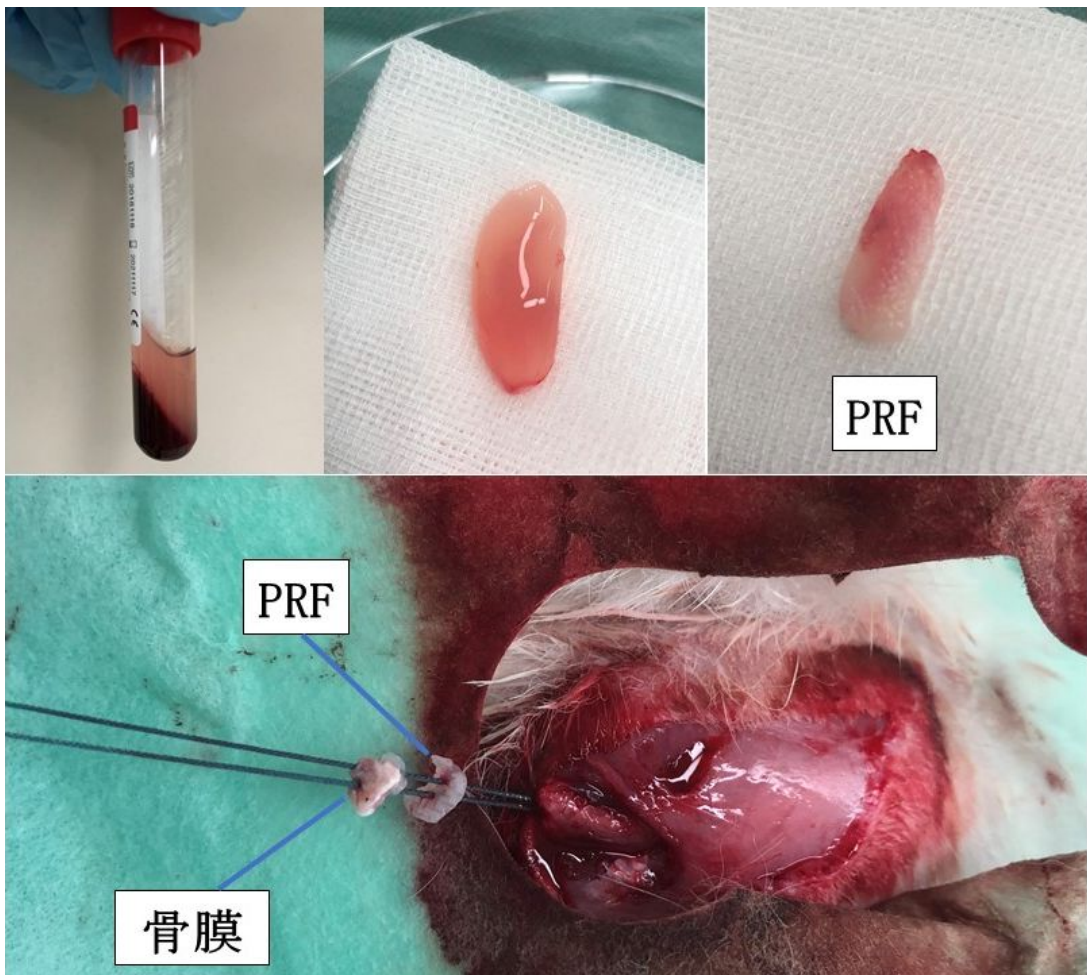


図 2 : 骨膜 + PRF 併用群での棘下筋腱断裂修復モデル

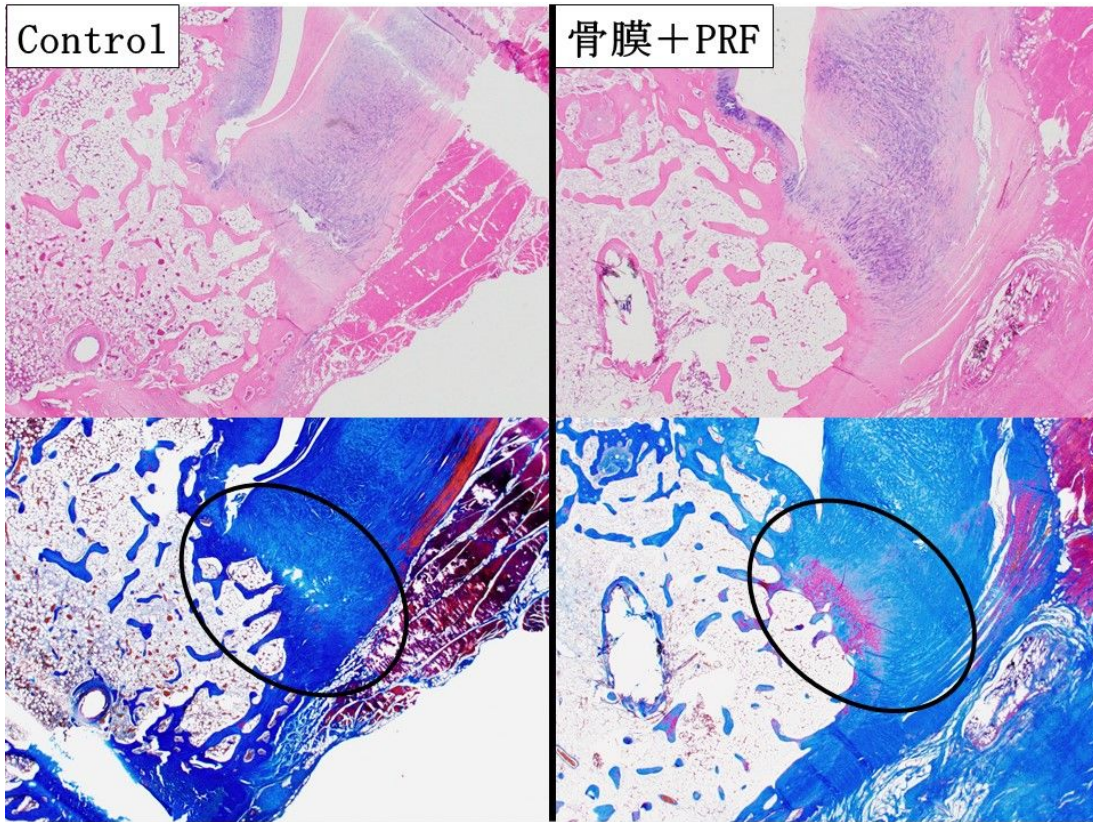


図 3 : Control 群及び骨膜 + PRF 併用群の組織学的評価

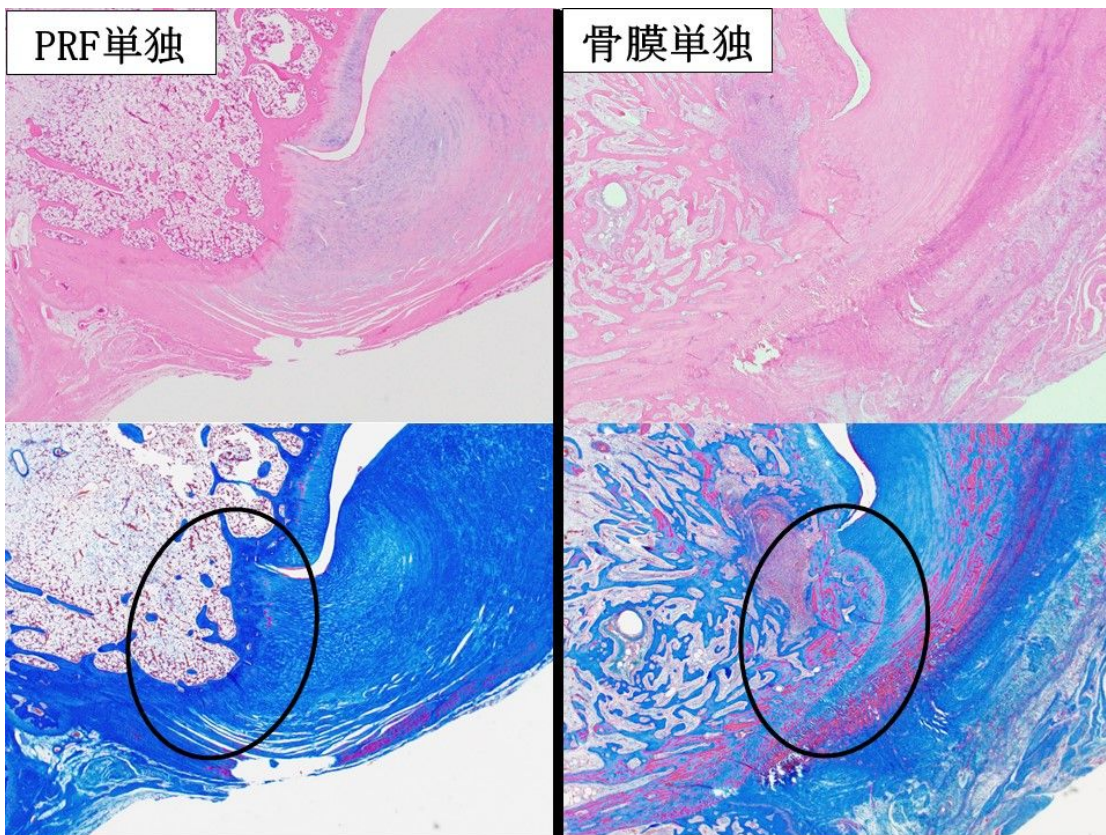


図 4 : PRF 单独群及び骨膜单独群の組織学的評価

* : p<0.05

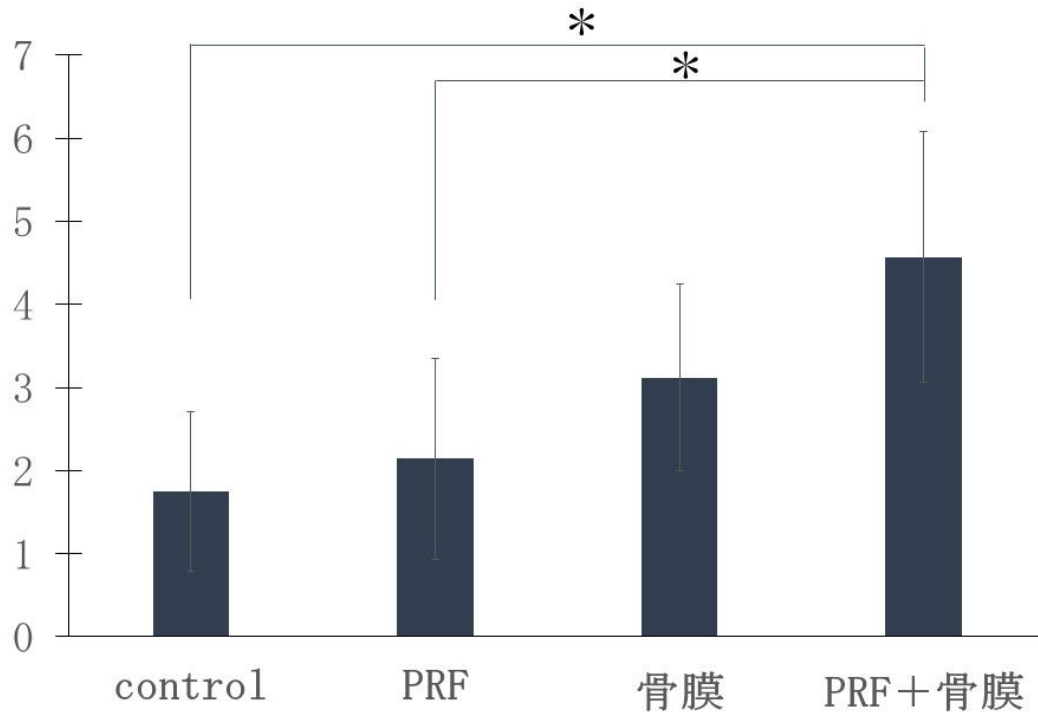


図5 腱骨修復部修復過程のスコアリング

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
研究協力者	間中 智哉 (Manaka Tomoya) (50382122)	大阪市立大学・大学院医学研究科・病院講師 (24402)	

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