

令和元年6月18日現在

機関番号：24303

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K20065

研究課題名(和文)多血小板血漿および徐放担体を用いた前十字靭帯再建術の次世代治療戦略

研究課題名(英文)ACR reconstruction using PRP and beta-TCP

研究代表者

井上 裕章(Inoue, Hiroaki)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：60457968

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：ラット大腿骨の骨孔にアキレス腱を移植するモデルを用いて、PRPが治癒過程に与える影響を組織学的に検討した。対照群としてアキレス腱と移植骨、それに -TCPを加えた -TCP群、PRPも加えた -TCP + PRP群の3群で比較した。術後2週で -TCP + PRP群で最も炎症細胞浸潤が軽度で、概ね良好な腱線維が確認できた。術後4週では全群ともに良好な腱線維を確認できたが、対照群と -TCP群では移植腱と骨との間に細胞密度の濃い介在組織を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の結果、PRPは -TCPを用いた靭帯再建術において、炎症を最小限にしながら移植腱 - 骨癒合を促進する可能性がある。

研究成果の概要(英文)：The influence of PRP on the healing process was examined histologically using a model in which the Achilles tendon is implanted in the rat femur. Achilles tendon and graft bone as a control group, -TCP group added with -TCP, and -TCP + PRP group added with PRP were compared. Two weeks after surgery, the inflammatory cell infiltration was the mildest in the -TCP + PRP group, and generally fine tendon fibers could be confirmed. Fine tendon fibers were confirmed in all groups at 4 weeks after surgery, but in the control group and the -TCP group, dense interstitial tissue was found between the transplanted tendon and bone.

研究分野：膝関節

キーワード：移植腱 組織学的検討

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

前十字靭帯 (anterior cruciate ligament: ACL) は膝関節の安定化を担う支持機構である。ACL 損傷は膝スポーツ外傷のなかでも頻度が高く、疼痛および不安定性によって膝関節の運動機能が低下するため早期治療が求められる。ACL の自然修復は極めて困難であるため、大腿骨および脛骨に作製した骨孔を通して自家靭帯を移植する ACL 再建術が広く行われている。ACL 再建術における移植靭帯としてハムストリングが広く用いられ、良好な臨床成績が報告されている。手術からスポーツ復帰までの期間を短縮させるためには、移植靭帯のリモデリングを促進させることが必要である。一方、ACL 再建術では、骨孔と移植靭帯の適合性をよくするため、自家骨を移植靭帯と骨孔の間に移植することがある。移植骨は生体力学的に、移植靭帯の初期固定性を向上させる働きがあるが、移植骨の生物学的な役割は不明である。β-リン酸三カルシウム (β-TCP) は体内において自家骨に置換することが知られている。ACL 再建動物モデルにおいて骨孔内に β-TCP を注入することで組織学的、力学的な早期治癒が報告されている。さらに、近年創傷治療の分野で多血小板血漿 (platelet rich plasma: PRP) が注目されている。

2. 研究の目的

本研究の目的は、骨孔内に靭帯と骨移植を併用したモデルを作製し、移植靭帯のリモデリング早期における、移植骨由来細胞の動態と機能を解明することである。また、β-TCP と PRP を併用することによる再建術後の組織学的影響を検討することである。

3. 研究の方法

12 週齢の雌 GFP ラットと Sprague-Dawley (SD) 野生型ラットを用いた。SD ラットの右大腿骨顆部に骨孔を作製して、別の SD ラットのアキレス靭帯と GFP ラットの大腿骨から採取した移植骨を骨孔に挿入した。対照として、右大腿骨顆部の骨孔内にアキレス靭帯のみを移植した。移植直後、1, 2, 4 週後に Hematoxylin-eosin および HSP47 の免疫染色による組織学的検討を行った。共焦点レーザー顕微鏡を用いて GFP 陽性細胞の動態を追跡した。免疫染色により、β-型および α-型コラーゲンの定量評価を行った。

12 週齢の SD ラットを用いて靭帯移植モデルを作製した。大腿骨顆部に骨孔を作製した。別の SD ラットから採取したアキレス靭帯と骨孔掘削時に採取できたスティック状の移植骨を骨孔に挿入した。アキレス靭帯と移植骨のみを挿入した群 (Control 群)、アキレス靭帯、移植骨および人工骨を挿入した群 (β-TCP 群)、アキレス靭帯、移植骨、人工骨および PRP を加えた群 (β-TCP + PRP 群) の 3 群を作製した。組織学的評価を 2, 4 週後に行った。

4. 研究成果

移植 1 週後で、移植靭帯の細胞は移植直後と比べ著しく減少した。移植 4 週後で、骨孔と移植靭帯の癒合は良好であった。移植靭帯内の細胞は増加し、血管新生もみられた (図 1)。移植 1 週後で、移植靭帯内に GFP 陽性細胞はなかった。移植 2 週後で、移植靭帯内に少数の GFP 陽性細胞がみられた。移植 4 週後では、移植靭帯内の GFP 陽性細胞は増加し、その形態は線維芽細胞様であった。移植 4 週後で、移植骨に少数の HSP47 陽性細胞を認めた。移植靭帯内には多くの HSP47 陽性細胞を認め、それぞれの一部は GFP 陽性細胞と一致していた。(図 2) 移植 2 週後で、β-型コラーゲンの染色面積の割合は、対照群 $61.0 \pm 12.7\%$ 、骨移植群 $23.7 \pm 8.0\%$ 、α-型コラーゲンは、対照群 $27.9 \pm 5.7\%$ 、骨移植群 $15.7 \pm 4.4\%$ であった (図 3)。

PRP や β-TCP を用いて靭帯移植を施行した全群ともに移植靭帯の骨化は認めず、骨組織と移植靭帯由来のコラーゲン線維が確認できた。移植 2 週後の評価としてアキレス靭帯の単独移植では移植靭帯はやや不明瞭であった。アキレス靭帯に骨と β-TCP を同時移植した群では靭帯と骨組織の境界が比較的明瞭に見られた。骨、β-TCP と PRP を同時移植した群では概ね良好な靭帯線維が確認でき、周囲骨組織への移行がなだらかであり、炎症細胞浸潤も軽度であった。

移植 4 週後でも評価した。対照群は移植靭帯周囲に多くの炎症細胞を認めた。骨と β-TCP を同時移植した群では良好な移植靭帯組織が確認でき、骨との間に細胞密度の濃い介在組織を認めた。骨、β-TCP と PRP を同時移植した群では最も炎症細胞浸潤が少なく、移植靭帯と骨組織は他の組織を介在することなく接着していた。(図 4)

本モデルでアキレス靭帯移植において、PRP の併用は炎症反応を軽減することと、骨への接着形態に影響を及ぼす可能性があることを明らかとした。



図1 移植腱内の細胞動態

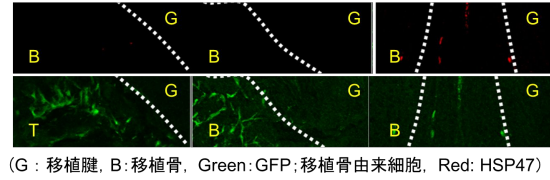


図2 HSP47 免疫染色と GFP 陽性細胞

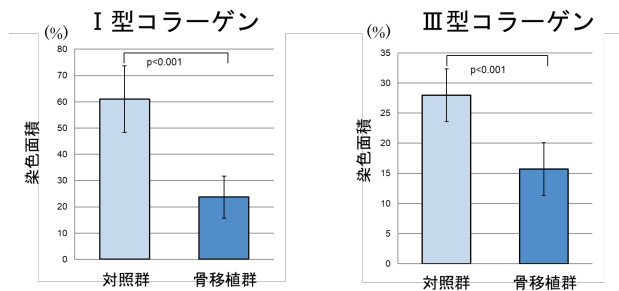
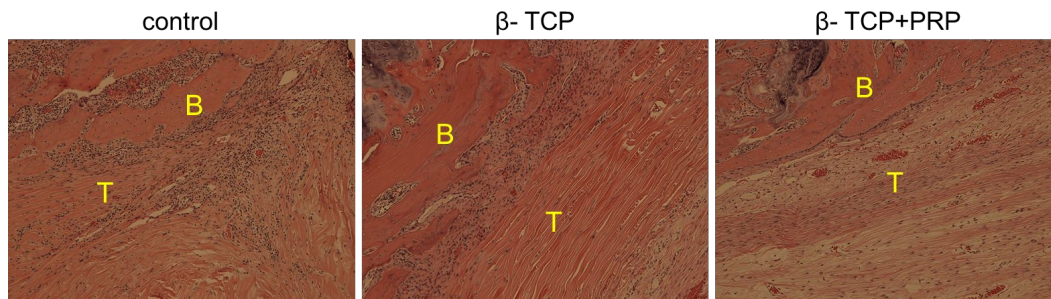


図3 型・型コラーゲンの免疫染色



B: bone, T: transplanted tendon

図4 移植腱に PRP が与える組織学的影響

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

井上裕章, 原 邦夫, 新井祐志, 金村 斉, 中川周士, 久保俊一
膝前十字靭帯再建術後における MR angiography を用いた移植腱再構築過程の骨孔前後壁の定量的評価
第 131 回 中部整形災害外科学会・学術集会, 2018

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：
ローマ字氏名：
所属研究機関名：
部局名：
職名：
研究者番号（8桁）：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：
ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。