

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：32202

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K18539

研究課題名(和文) 大動物モデルを用いた膝内側側副靭帯修復術における人工靭帯補強の有用性評価

研究課題名(英文) In Vivo biomechanical evaluations of Internal bracing with an artificial ligament for repairing grade 3 superficial medial collateral ligament injury in a porcine model.

研究代表者

高橋 恒存 (TAKAHASHI, Tsuneari)

自治医科大学・医学部・講師

研究者番号：80781301

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：大動物モデルを用いて内側側副靭帯損傷修復術に対する人工靭帯補強の効果を調査したところ、破断様式は内側側副靭帯修復術群が全例靭帯付着部裂離であったことに対して、人工靭帯を用いた補強修復術群では全例が靭帯実質部断裂であった。引張試験での最大破断強度(平均250.1 N vs 229.3 N)、線形剛性(平均26.9 N/mm vs 32.9 N/mm)、破断伸び(平均13.4 mm vs 13.2 ±mm)に関して修復術群対補強修復術群で有意差を認めず、人工靭帯を用いた補強は内側側副靭帯修復術後の構造特性を改善させなかったが破断様式が変化させたことが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

人工靭帯を用いた内側側副靭帯補強修復術の臨床成績に関する報告は少なく、大動物を用いた生体力学的研究の報告も無かったため、本研究は膝内側側副靭帯損傷モデルに対する人工靭帯を用いた補強修復術のin vivo studyとして初の報告となり、臨床的意義が強いと考えられる。本研究の結果はヒト内側側副靭帯重度損傷に対する自家腱採取の侵襲を低減した新規手術治療法の開発の基盤となる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：We used a porcine model to evaluate the efficacy of internal bracing using an artificial ligament for the early repair of acute, grade 3 SMCL injuries. As Results, significant differences in failure mode were observed among the three groups. All SMCLs repaired with just the suture anchors (Group R) were avulsed from the femoral attachment, while most of the SMCLs repaired with internal bracing augmentation (Group IB) exhibited mid-substance tears (Group R vs Group IB, $P = 0.0023$). In Group S, 14 SMCLs were avulsed from the femoral attachment and two were avulsed from the tibial attachment (Group IB vs Group S, $P < 0.001$). No significant difference was observed between Group R and Group S. There were no significant differences in the upper yield load, maximum load, linear stiffness, or elongation at failure among the groups. These findings indicated that loading of an artificial ligament for internal bracing did not result in better structural properties of the repaired SMCL itself.

研究分野：整形外科科学

キーワード：膝内側側副靭帯損傷 補強修復術 生体工学的研究 大動物モデル

1. 研究開始当初の背景

膝内側側副靭帯損傷はスポーツや交通外傷などで高頻度に生じる外傷である。症状として膝の腫脹、可動域制限、疼痛、膝関節不安定感などがあり、スポーツ活動の継続のみならず、階段昇降などの日常生活に支障を来す膝関節靭帯損傷の中で最も頻度の高い外傷である (Varelas et al. *Orthop. J. Sports Med.* 2017)。膝内側側副靭帯は膝関節の関節包よりも表層に位置する関節外靭帯であり、周辺血流が豊富であることから、多くの軽度損傷症例では装具固定などの保存療法で良好な成績が期待される。しかしその一方で重度内側側副靭帯損傷はしばしば前十字靭帯や後十字靭帯損傷を併発し、内側側副靭帯修復術や再建術が必要となる。前十字靭帯ならびに後十字靭帯は靭帯内の血流が乏しく、血流は周辺滑膜から進入している血管に依存している (Arnoczky et al. *Am. J. Sports Med.* 1982)。また、関節内靭帯であり、損傷時の血腫形成が困難なため、保存治療や靭帯修復術では不安定性が残存する (Palmer et al. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 2007)。そのため、膝前十字靭帯損傷ならびに後十字靭帯損傷に対しては現在自家膝蓋腱や膝屈筋腱を用いた再建術が広く行われているが、受傷側膝の自家腱の採取可能量には限りがあるため、複合靭帯損傷再建術の際にはしばしば非損傷側膝からの自家腱採取が必要となる。人工靭帯は 1980 年台に開発され、かつては膝前十字靭帯損傷や後十字靭帯損傷の再建術に使用されたが、関節内靭帯の再建に使用した場合術後滑膜炎や再断裂の危険性が高く、現在本邦では使用されることは少ない (Glezos et al. *Am. J. Sports Med.* 2015)。しかしながら、現在も内側膝蓋大腿靭帯損傷に対する再建術など関節外に使用される場合 (Khemka et al. *Knee.* 2015) や前十字靭帯再建術に使用される移植腱の骨孔内に留置される部位の補強に関しては安全に使用されている (Yasuda et al. *Arthroscopy.* 2004)。そのため、関節包外靭帯である内側側副靭帯修復術に対する補強材料として使用できる可能性がある。

複合靭帯損傷の内側側副靭帯修復術に人工靭帯を使用できれば、自家腱採取に伴う侵襲低減に有用である。申請者はこれまで、大動物 (羊) 膝前十字靭帯再建手術モデルを用いた生体力学および組織学的研究に従事した。一般的に動物実験で用いられるウサギやマウスなどの小動物は靭帯、軟骨など関節内軟部組織の再生能力がヒトよりも高いこと、膝関節が小さく正確手術を行うことが困難であることから、膝関節疾患モデルには大動物を用いた実験系が必要であるとされている。ブタ膝関節は解剖学的にヒト膝関節と近似している (Xerogeanes et al. *Ann. Biomed. Eng.* 1998)。また、ヒトと同様に膝関節安定性、靭帯の構造特性、膝関節骨形態および軟骨の厚みなどの性差が存在することなどから、膝関節靭帯再建術モデルの対象動物として適当であると考えられている (Kiapour et al. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 2015)。

2. 研究の目的

ブタ膝内側側副靭帯損傷モデルにおいて、人工靭帯を用いた内側側副靭帯修復術の術後早期 (12 週) における有効性と安全性について明らかにすることである。

3. 研究の方法

ブタ右膝内側側副靭帯損傷モデルを作成し、以下の術式を施行して、術後 12 週において生体力学的、組織学的に比較する。各群の頭数は 10 頭ずつとする。

偽手術群：セボフルラン使用全身麻酔下に右膝関節内側に縦皮切を起し、皮下軟部組織を剥離して内側側副靭帯を露出後に閉創する。

内側側副靭帯修復術群：セボフルラン使用全身麻酔下に右膝関節内側に縦皮切を起し、皮下

軟部組織を剥離して内側側副靭帯を露出し、中央部をメスで鋭的に切離す。切離後に断端を非吸収糸で縫合し、閉創する。

人工靭帯を用いた内側側副靭帯補強修復術群：セボフルラン使用全身麻酔下に右膝関節内側に縦皮切を起し、皮下軟部組織を剥離して内側側副靭帯を露出し、大腿骨側および脛骨側の付着部からメスで鋭的に切離す。内側側副靭帯修復術群と同様の縫合を行ったあとで大腿骨側および脛骨側の解剖学的付着部に4.5 mm径のドリルを用いて骨孔を作成し、医療用ポリエステル製のテープ状人工靭帯を挿入し、スクリュー固定を行った後閉創する。

術後鎮痛：閉創時に創部に局所麻酔薬(1%アナペイン)を局注し、その後座薬を用いて随時行う。

感染予防：抗生剤点滴を術中術後に行う。術後ケージ内で経過観察し、創部の状態、患肢の荷重様式、歩行様式について週1回記録を行う。

後療法：術後翌日から外固定を行わず、荷重制限なくケージ内での歩行を許可する。

屠殺時期：術後12週に全身麻酔下に塩化カリウム静注で安楽的に屠殺し、左右後肢を股関節から摘出する。摘出検体を生体力学的ならびに組織学的評価に提出する。左後肢は正常コントロール膝として、生体力学的評価ならびに組織学的評価を行う。

生体力学的評価：屠殺後標本摘出前に関節軟骨面の評価をヒト軟骨評価と同様の

International Cartilage Repair Society分類(Mainil et al. Am. J. Sports Med. 2010)ならびにOuterbridge分類(Outerbridge et al. J Bone Joint Surg Br. 1961)を用いて行う。摘出標本は自治医科大学整形外科教室の-80℃冷蔵庫に検査前夜まで凍結保存する。生体力学的試験前日に室温で解凍し、膝関節周囲の筋肉、内側側副靭帯以外の靭帯、半月板、関節包をすべて切除した大腿骨-移植腱-脛骨複合体を作成する。大腿骨・脛骨ともに関節面から10cmの位置で切離し、歯科用レジンと直径45mmのアルミチューブでポッティングし、両端のアルミチューブを把持して生体力学試験を行う。生体力学試験は力学試験機(テンシロン、エー・アンド・デイ、東京)を用いて張力が内側側副靭帯に対して平行にかかるように設定する。引張試験前に5Nのクロスヘッド速度20 mm/分、10サイクル3%延びのプレコンディショニングを10分間行う。プレコンディショニング後に同様の状態でクロスヘッド速度50 mm/分で破断させる。調査項目は引張試験での降伏強度、破断強度、線形剛性、破断伸びを荷重延び曲線から算出する。

組織学的評価：生体力学的実験直後に大腿骨-内側側副靭帯-脛骨複合体を取り出し、10%中性ホルマリンで24時間固定後エチレンジアミン四酢酸を用いて7日間脱灰し、パラフィン包埋する。検体の矢状断で4μmの厚さで切片作成し、0.01%リジンコートスライド状に設置する。37℃で一晩乾燥させ、キシレンで脱脂後に蒸留水で洗浄し、中性リン酸緩衝生理食塩水に浸潤させ、その後HE染色およびサフラニンO染色を行い、内側側副靭帯の形態学的評価を行う。また、免疫染色に関してはI型コラーゲン染色で内側側副靭帯のコラーゲン線維を評価する。

4. 研究成果

【結果】破断様式は内側側副靭帯修復術群が全例靭帯付着部裂離であったことに対して、人工靭帯を用いた補強修復術群では全例が靭帯実質部断裂であった。引張試験での最大破断強度(250.1 ± 63.1 N vs 229.3 ± 112.0 N)、線形剛性(26.9 ± 14.3 N/mm vs 32.9 ± 21.6 N/mm)、破断伸び(13.4 ± 5.8 mm vs 13.2 ± 10.8 mm)に関して修復術群対補強修復術群であ

り有意差を認めなかった。【結論】人工靭帯を用いた補強は内側側副靭帯修復術後の構造特性を改善させなかったが破断様式が変化した。上記結果を J Orthopaedic Science 誌に投稿しアクセプトされた。Takahashi T, Kubo T, Kimura M, Takeshita K. Internal bracing with an artificial ligament for superficial medial collateral ligament injury impairs the mechanical property of repaired native ligament: A porcine study. J Orthop Sci. 2021 Sep;26(5):915-918. doi: 10.1016/j.jos.2020.08.012. Epub 2020 Sep 16. PMID: 32948405.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Takahashi T, Kubo T, Kimura M, Takeshita K.	4. 巻 9
2. 論文標題 Internal bracing with an artificial ligament for superficial medial collateral ligament injury impairs the mechanical property of repaired native ligament: A porcine study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Orthopaedic Science	6. 最初と最後の頁 915-918
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jos.2020.08.012	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Takahashi T, Takeshita K.	4. 巻 29
2. 論文標題 In Vivo biomechanical evaluations of suture anchors for repairing grade 3 superficial medial collateral ligament injury in a porcine model.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Orthopaedic Surgery	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1177/23094990211021536	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Tsuneari Takahashi, Shuji Hishikawa, Takuya Ito, Kaori Igarashi, and Katsushi Takeshita
2. 発表標題 A Biomechanical, and Radiological Evaluation of Medial Collateral Ligament Repair Using Suture Anchor in A Large Animal Model
3. 学会等名 Orthopaedic Research Society 2020 annual meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔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
---------	---------