

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 4 月 3 日現在

機関番号：22101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24500792

研究課題名(和文)リン酸カルシウム複合化腱を使用したヤギ解剖学的2重束前十字靭帯再建術の効果

研究課題名(英文)Effect of calcium phosphate hybridized tendon graft in anatomical double-bundle ACL reconstruction in goats

研究代表者

六崎 裕高(Mutsuzaki, Hiroataka)

茨城県立医療大学・保健医療学部・教授

研究者番号：50550927

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：ヤギを用いた解剖学的1重束ACL再建術において、CaP複合化腱は、術後6カ月の移植腱骨孔の固着を改善し、膝生体力学的な機能を改善した。CaP複合化腱を用いた場合、ヤギ解剖学的2重束ACL再建術は解剖学的1重束ACL再建術に比べ、膝生体力学的な機能を改善した。CaP複合化腱と解剖学的2重束ACL再建術を組み合わせることで、より優れた膝機能を獲得できると考えられた。

研究成果の概要(英文)：The biomechanical functions of the CaP-hybridized tendon graft were improved compared with the untreated tendon graft 6 months after anatomical single-bundle ACL reconstruction in goats because of enhanced tendon-to-bone healing at the joint aperture site. The anatomical double-bundle ACL reconstruction enhanced biomechanical function compared with the anatomical single-bundle ACL reconstruction 6 months postoperatively using CaP-hybridized tendon grafts in goats. Anatomical double-bundle ACL reconstruction using CaP-hybridized tendon grafts can lead to better knee functions.

研究分野：総合領域

キーワード：リン酸カルシウム複合化腱 解剖学的前十字靭帯再建

1. 研究開始当初の背景

スポーツ活動における前十字靭帯 (ACL) 受傷患者は多く、放置や不十分な手術方法により、膝不安定性が残存し、スポーツ活動への復帰困難や将来的な変形性関節症に陥る可能性が高い。現在の ACL 損傷に対する治療方法は再建術が一般的で、これまで非解剖学的な位置に自家靭帯を移植する ACL 再建術が多く行われてきた。近年、再建術は進化し、ACL の 2 本の線維束である前内側線維 (AM) 束、後外側線維 (PL) 束を解剖学的に再建する解剖学的 2 重束 ACL 再建術が開発された。この方法により、Time 0 の死体膝を用いた研究では、前後方向の不安定性や回旋不安定性が改善することが報告されている。しかし、移植靭帯と骨孔の固着は線維性組織を介したゆるいものや、固着していない部分も存在するなど、長期成績での問題が危惧される。

我々は移植靭帯と骨孔の固着改善のために、交互浸漬法を応用し、移植靭帯にリン酸カルシウム (CaP) を複合化する新しい方法を開発した。本方法は、移植靭帯をカルシウム溶液に 30 秒、リン酸溶液に 30 秒間ずつ交互に浸漬することを合計 10 回、術中に行うものである。ウサギを用いた先行研究で、この CaP 複合化靭帯を骨孔内に移植すると、術後 2 週で骨芽細胞が導入され、線維性組織を介さない移植靭帯と骨孔の直接的な固着を認めた。また、ヤギを用いた非解剖学的 1 重束 ACL 再建術後 1 年の研究では、脛骨に前方力・内旋モーメントをかけた際の脛骨移動量は CaP 法の方が小さく、移植靭帯内に生じた力は CaP 法の方が従来法より大きかった。これは、CaP 複合化靭帯が有効に作用していることを示した結果である。

我々は、より正常膝に近い膝機能を獲得するための新しい手術方法として、CaP 複合化靭帯と解剖学的 2 重束 ACL 再建術を組み合わせる方法を考案した。すなわち、解剖学的に正常 ACL 線維配列を模倣した、解剖学的 2 重束 ACL 再建術と、移植靭帯と骨の固着を改善する CaP 複合化靭帯の融合による新しい手術方法である。本方法における再建術において、より優れた膝機能の獲得ができると期待している。

2. 研究の目的

(研究 1) ヤギを用いた解剖学的 1 重束 ACL 再建術において、CaP 複合化靭帯の効果を明らかにすること

(研究 2) CaP 複合化靭帯を用いて、解剖学的 2 重束 ACL 再建術の効果を明らかにすること

3. 研究の方法

(研究 1) ヤギ解剖学的 1 重束 ACL 再建術における CaP 複合化靭帯の効果

ヤギ (ザーネン種、メス) を 10 頭使用した (CaP 群 : 5 頭、従来法 : 5 頭)。

ACL 再建術 : 全身麻酔下に右膝を展開し、

ACL を切除後、大腿骨・脛骨の ACL 付着部に正確に骨孔を作成した。移植靭帯は同側足の長趾屈筋腱を採取し、それぞれ 4 重折として骨孔に移植した。大腿骨側はエンドボタン、脛骨側はスクリューで固定した。

CaP 複合化 : CaP 群の移植靭帯は大腿骨・脛骨骨孔に入る部分を CaP 複合化した。カルシウム溶液 50cc(100mM CaCl₂+30mM L-histidine) とリン酸溶液 50cc(116.4mM NaH₂PO₄ : 128.7mM Na₂HPO₄・12H₂O=15% : 85%) にそれぞれ 30 秒ずつ、10 回交互浸漬した。関節内部分マスキングした。

力学試験 : 術後 6 か月、右膝を取り出し、6 自由度を有する UFS ロボティックシステムに接続し、膝最大伸展、屈曲 60 度、屈曲 90 度において、脛骨にそれぞれ前方力 50N、内旋モーメント 2.0Nm を加えた際の脛骨の移動量と移植靭帯に生じた張力 (in situ force) を算出した。その際、参考値として正常膝 5 検体を使用した。

CT による骨孔拡大の評価 : 力学試験終了後、64 列 CT を用いて術後の骨孔拡大率を算出した。骨孔拡大に関しては、骨孔の関節出口において、術中骨孔をあけたドリル径をもとに、術後の骨孔の面積から算出した。

組織学的評価 : CT による骨孔拡大の評価後、検体は骨孔に対して矢状断に切断され、10% 中性緩衝ホルマリンで固定され、脱灰の後、パラフィン包埋して、薄切した。骨孔前後方向での移植靭帯と骨孔間の軟骨層・非固着部分を測定した。軟骨層は、移植靭帯-骨孔間で、Safranin O 染色にて赤染する領域の面積を求めた。非固着部分は、関節出口部分からの距離を測定した。また、移植靭帯実質の評価に関しては組織学的グレード The ligament tissue maturation index (LTMI) Murray et al. 2017 に基づいて評価を行った。

(研究 2) CaP 複合化靭帯を用いた解剖学的 2 重束 ACL 再建術の効果

ヤギ (ザーネン種、メス) を 12 頭用いた (2 重束群 : 6 頭、1 重束群 : 6 頭)。

1 重束群再建術 : 全身麻酔下に右膝を展開し、ACL を切除後、大腿骨、脛骨の ACL 付着部に正確に骨孔を 1 つずつ作成した。移植靭帯は同側足の長趾屈筋腱を採取し、それぞれ 4 重折として骨孔に移植した。大腿骨側はエンドボタン、脛骨側はスクリューで固定した。

2 重束再建術 : 全身麻酔下に右膝を展開し、ACL を切除後、大腿骨、脛骨の AM 束、PL 束付着部に正確に骨孔を 2 つずつ作成した。移植靭帯は同側足の長趾屈筋腱を採取し、それぞれ 2 重折として骨孔に移植した。大腿骨側はエンドボタン、脛骨側はスクリューで固定した。

CaP 複合化 : 上述の通りに、CaP 群の移植靭帯は大腿骨・脛骨骨孔に入る部分を CaP 複合化した。カルシウム溶液 50cc(100mM CaCl₂+30mM L-histidine) とリン酸溶液 50cc(116.4mM NaH₂PO₄ : 128.7mM Na₂HPO₄・

12H₂O=15% : 85%)にそれぞれ 30 秒ずつ、10 回交互浸漬した。関節内部分マスキングした。力学試験：術後 6 か月、右膝を取り出し、6 自由度を有する UFS ロボティックシステムに接続し、膝最大伸展、屈曲 60 度、屈曲 90 度において、脛骨にそれぞれ前方力 50N、内旋モーメント 2.0Nm を加えた際の脛骨の移動量と移植腱に生じた張力 (in situ force) を算出した。また、解剖学的 2 重束再建術では、移植腱の AM 束、PL 束の順に切断して、それぞれの張力 (in situ force) を算出した。解剖学的 1 重束再建術では、移植腱の前半分、後半分を順に切断して、それぞれの張力 (in situ force) を算出した。力学試験においては、参考値として正常膝 6 検体を使用した。組織学的評価：力学試験の後、検体は骨孔に対して矢状面に割断され、10% 中性緩衝ホルマリンで固定され、脱灰の後、パラフィン包埋して、薄切した。骨孔前後方向での移植腱と骨孔間の軟骨層・非固着部分を測定した。軟骨層は、移植腱-骨孔間で、Safranin O 染色にて赤染する領域の面積を求めた。非固着部分は、関節出口部分からの距離を測定した。また、移植腱実質の評価に関しては組織学的グレード The ligament tissue maturation index (LTMI) Murray et al. 2017 に基づいて評価を行った。

4 . 研究成果

(研究 1)

膝屈曲 60°、90°において、前方力を加えた際の in situ force は CaP 群の方が従来法より大きかった (膝屈曲 60°: 38.4 ± 3.6N vs 25.4 ± 9.1N, 膝屈曲 90°: 27.4 ± 4.5N vs 12.5 ± 7.6N, $p < 0.05$)。脛骨の移動量においては、完全伸展、膝屈曲 60°、90°において、両群間に有意差はみられなかった。正常膝は CaP 群・従来法より生体力学的に上回っていた。

CT における骨孔拡大率の評価では、両群間に有意差はなかった。

組織学的には、CaP 群の方が従来法より大腿骨前方・脛骨後方の関節近傍での移植腱 骨孔間の軟骨層が厚く (大腿骨前方: 0.10 ± 0.06 mm² vs 0.02 ± 0.03 mm², 脛骨後方: 0.17 ± 0.13 mm² vs 0.04 ± 0.04mm², $p < 0.05$)、非固着部分が少なかった (大腿骨前方: 1.10 ± 0.85 mm vs 3.12 ± 1.35 mm, 脛骨後方: 0.39 ± 0.88 mm vs 1.78 ± 1.37mm, $p < 0.05$)、移植腱の成熟度には有意差はなかった。

(研究 2)

膝最大伸展・屈曲 90°において、前方力を加えた際の in situ force は 2 重束群の方が 1 重束群より大きかった (最大伸展: 50.5 ± 3.6N vs 42.5 ± 3.2N, 膝屈曲 90°: 34.4 ± 4.8N vs 27.6 ± 4.1N, $p < 0.05$)。膝最大伸展・屈曲 60°において、内旋力を加えた際の in situ force は 2 重束群の方が 1 重束群より大きかった (最大伸展: 44.9 ± 18.1N vs 26.6 ± 13.4N, 膝屈曲 60°: 21.7 ± 12.9N vs 9.6 ± 4.1N, $p < 0.05$)。特に、2 重束

群の PL 束は膝最大伸展時の前方力・内旋力を加えた際に効果を発揮した。脛骨の移動量においては、完全伸展、膝屈曲 60°、90°において、両群間に有意差はみられなかった。正常膝は CaP 群・従来法より生体力学的に上回っていたが、CaP 群に近い値を示した。

組織学的には、関節近傍での移植腱 骨孔間の軟骨層、非固着部分、移植腱の成熟度ともに両群間で有意差はなかった。

結論

ヤギを用いた解剖学的 1 重束 ACL 再建術において、CaP 複合化腱は、術後 6 か月の移植腱 骨孔の固着を改善し、膝の生体力学的な機能を改善した。

CaP 複合化腱を用いた場合、ヤギ解剖学的 2 重束 ACL 再建術は解剖学的 1 重束 ACL 再建術に比べ、膝の生体力学的な機能を改善した。

CaP 複合化腱と解剖学的 2 重束 ACL 再建術を組み合わせることで、より優れた膝機能を獲得できると考えられた。

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 2 件)

Mutsuzaki H, Fujie H, Nakajima H, Fukagawa M, Nomura S, Sakane M. Effect of Calcium Phosphate-Hybridized Tendon Graft in Anatomic Single-Bundle ACL Reconstruction in Goats. Orthop J Sports Med. 4(8):2325967116662653. 2016

Mutsuzaki H, Fujie H, Nakajima H, Fukagawa M, Nomura S, Sakane M. Comparison of postoperative biomechanical function between anatomic double-bundle and single-bundle ACL reconstructions using calcium phosphate-hybridized tendon grafts in goats. Orthop Traumatol Surg Res. 103(2): 239–243. 2017

[学会発表] (計 1 件)

Mutsuzaki H, Fujie H, Nakajima H, Fukagawa M, Nomura S, Sakane M. Anatomical single-bundle anterior cruciate ligament reconstruction using calcium phosphate hybridized tendon graft in goats. 10th International Society of Physical and Rehabilitation Medicine World Congress (ISPRM 2016) 2016. 5. 29 - 6.2 Kuala Lumpur, Malaysia

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

六崎 裕高 (MUTSUZAKI, HIROTAKA)
茨城県立医療大学・医科学センター・教授
研究者番号：50550927

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

藤江 裕道 (FIJIE, HIROMICHI)
首都大学東京・システムデザイン学部・教授
研究者番号：20199300