

氏 名 (本籍)	にし の とも ふみ 西 野 衆 文 (大 阪 府)		
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)		
学 位 記 番 号	博 甲 第 5464 号		
学位授与年月日	平成 22 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審 査 研 究 科	人間総合科学研究科		
学 位 論 文 題 目	制御された力学的負荷が家兎関節軟骨修復に与える影響		
主 査	筑波大学教授	医学博士	住 田 孝 之
副 査	筑波大学講師	博士 (医学)	三 好 浩 稔
副 査	筑波大学講師	博士 (医学)	柳 川 徹
副 査	筑波大学助教	博士 (神経科学)	小金澤 禎 史

論 文 の 内 容 の 要 旨

(目的)

関節牽引運動下の再生関節軟骨組織に制御された荷重を与え、荷重と軟骨再生の関係を明らかにすること。

(対象と方法)

16 週齢日本白色家兎計 60 羽を用いた。ペントバルビタールナトリウムによる静脈麻酔下に、蝶番関節付き創外固定器を膝関節に装着したのち、前・後十字靱帯および半月板を切離・切除し、さらに脛骨近位関節面を軟骨下骨も含めて全切除した。創外固定器による牽引を維持しているため、骨切りした厚さ分間隙が生じる。これまでの実験よりこの状態を維持することで関節軟骨組織の再生が得られることが分かっており、各実験での屠殺後脛骨内外顆中央矢状断での組織を採取し、safranin O 染色および抗 I・II 型コラーゲン染色を行った。組織スコアリングとしては改変 International Cartilage Repair Society 組織スコアリング法を用いた。画像をデジタル処理した後、画像解析ソフトを用い再生軟部組織、Safranin O 染色ならびに抗 II 型コラーゲン抗体陽性領域の面積を測定した。再生組織に占める軟骨様組織の比をみるため後二者を前者で除した値を計算した。

- 1) 創外固定による牽引の長期的影響と創外固定抜去後の関節軟骨再生の経過を観察するため、6 ヶ月間ケージ内を自由に運動させ屠殺した A 群 (9 羽) と、その後創外固定を抜去してさらに 6 ヶ月間自由に運動させた B 群 (7 羽) を比較した。
- 2) 関節に圧迫が加えられるよう創外固定器を改良し、創外固定器のリング部分を制御装置に接続し、コンピューター制御下に関節内に一定の圧迫力と持続他動運動が加えられるようにした。6 週目からの 3 週間、毎日 2 時間、関節に段階的な荷重を与える 6W-GWB (gradual weight-bearing) 群 (6 羽)、同期間、毎日 2 時間、CPM (continuous passive motion) のみ行う 6W-CPM 群 (6 羽)、特に処置を行わない対照の 6W-CON (control) 群 (5 羽)、9 週目からの段階的な荷重を与える 9W-GWB 群 (6 羽)、CPM のみ行う 9W-CPM 群 (7 羽)、対照の 9W-CON 群 (7 羽) を設定した。GWB および CPM 群は装置の接続固定維持のため処置中は麻酔による鎮静を行った。また、9 週目からの麻酔をかけて制御装置に接続する 9W-ANE (anesthesia) 群 (7 羽) も加えた。GWB 群では処置後は圧迫を解除し、創外固定器による関節に牽引がかかる状態に

戻し、自由に運動させた。

全ての群で実験開始から3週後に屠殺し、前述の組織評価を行った。

(結果)

- 1) 組織スコアリングではB群はA群に比べ有意ではなかったものの、全てのクライテリアで高いスコアを示した。軟部組織再生面積および抗Ⅱ型コラーゲン抗体陽性領域の面積は、B群で有意に大きかった。軟部組織再生面積に対するSafranin O染色および抗Ⅱ型コラーゲン染色陽性領域の面積比は、B群が高かったものの有意差はなかった。
- 2) 6週から開始した3群では組織スコアリングと再生軟部組織などの計測面積に差はなかった。再生軟部組織に占めるSafranin O染色および抗Ⅱ型コラーゲン抗体陽性領域の面積の比では、6W-CON群が6W-CPM群に比べ有意に高かった。6W-GWB群と6W-CPM群の二群比較では、抗Ⅱ型抗体陽性領域の面積の比が6W-GWB群で高かった。9週から開始した4群ではスコアリングの二つの項目で9W-GWB群が他群に比べ有意に高いスコアを示した。Safranin O染色領域は9W-GWB群が他群に比べ有意に大きく、その再生軟部組織に対する比においても9W-CPM群、9W-ANE群に比べ大きかった。同じ処置を行った群間を開始時期で比較すると、GWB群では再生軟部組織に対するSafranin O染色領域の面積比において、9週から開始した群が6週から開始した群に比べて有意に高い値を示した。

(考察)

6ヶ月創外固定による牽引と運動を行った群と、その後創外固定を抜去し荷重を開始した群の比較では、後者では前者に比べ軟骨再生量が増加していた。これは荷重という力学的ストレスが軟骨再生を促し、さらにその維持に有利に働いていると考えられた。われわれが以前に行った12週までの実験結果と比較すると6ヶ月の長期にわたる牽引は軟骨再生には抑制的に働いた。このことから長期の牽引（免荷）は軟骨代謝に抑制的に働くという、これまでの報告と同様の見解が得られた。荷重という力学的ストレスを与えることが関節軟骨再生に重要であると考えたが、牽引の至適な期間や、一期的に全荷重を与えることの可否は不明であった。

6週から開始した3群の比較では、荷重も持続他動運動も行わなかった6W-CON群が6W-CPM群に比べて有意に軟骨の再生がみられ、6W-GWB群と6W-CPM群の比較でも前者の軟骨再生が良好であった。9週から開始した4群では段階的な圧迫を加えた9W-GWB群がスコアリングでも組織の再生面積でも他に比べて有意に関節軟骨組織の再生が得られていた。GWB群の開始時期における結果の比較からも、9週からの段階的荷重は軟骨再生を促すことが明らかになった。

今回のモデルでいずれの時期に開始した群でもCPM群の軟骨再生が不良であった。装置に接続するストレスや、術後の関節軟部組織の拘縮がある状態で他動的な運動が結果的に軟骨代謝へ不利に働いたと考えられた。

(結論)

力学的環境のコントロールは軟骨再生において非常に重要である。9週程度の牽引と運動で再生軟骨が成熟すれば、段階的な荷重という制御された力学的ストレスに応答し間葉系細胞などの軟骨への分化、成熟化を促進すると考えた。本研究は、再生軟骨組織の力学的応答が荷重時期により変化するという新しい知見を報告し、後療法に対する新しいエビデンスを提示した。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究の目的は、関節牽引運動下の再生関節軟骨組織に荷重を与え、荷重と軟骨再生の関係を明らかにすることである。結果として、力学的環境が再生軟骨組織に影響を与える事、力学的応答が荷重時期により変

化すること等を明らかにした。本研究成果は、力学と軟骨再生に関する最初の知見であり世界でも高く評価されている。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。