

氏名(本籍)	田中利和(埼玉県)		
学位の種類	博士(医学)		
学位記番号	博乙第2295号		
学位授与年月日	平成19年3月23日		
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	2nd stage tendon graft 法に対する癒着防止法と新しい腱縫合法の検討		
主査	筑波大学教授	薬学博士	幸田幸直
副査	筑波大学助教授	博士(医学)	石井朝夫
副査	筑波大学助教授	博士(医学)	江口清
副査	筑波大学講師	医学博士	遠藤隆志

論文の内容の要旨

(目的)

腱断裂に対する治療は、断裂した腱同士を直接縫合する一次的腱縫合法と、感染や高度の挫滅によって一次的な縫合が不可能な症例に行う二次的な腱再建法がある。二次的腱再建法は、腱の短縮や腱床の状態が悪い際に人工腱を移植して偽腱鞘を作成した後、腱移植を行うものであるが、移植腱の周囲との癒着や縫合部の断裂により、その成績は必ずしもよくない。

癒着対策としてヒアルロン酸(HA)の修飾反応として以前から臨床で使用されているカルボジイミド誘導反応を腱に応用した報告では、腱鞘滑膜外腱の表面をゼラチンとともに化学修飾することで500回以上の模擬屈伸滑走運動後でも低い滑走抵抗を維持し続けるとされるが、至適な条件設定は未解決のままである。また、縫合部の合併症では、移植腱近位縫合部の断裂が多く、これまで決定的な解決方法はない。

本研究の目的は、カルボジイミドを用いたHAの修飾による腱表面加工により、HAの長時間の腱表面への付着の確認と至適な薬剤濃度と静置時間を明らかにして、この技術の臨床応用を可能にすること、さらに移植腱の近位縫合部の断裂に対する新しい縫合法を開発し、臨床応用の可能性をみることである。

(対象と方法)

40頭の犬から80本の腱鞘外滑膜腱である長腓骨筋腱(PL)を表層のパラテノン切除し採取した。腱鞘は、後肢の第二趾をA2プーリーと趾骨を複合体として取り出し、採取した腱を処理群と未処理群に分け、プーリーに通して自作計測器を用いて滑走抵抗を計測した。計測は滑動速度を2mm/秒とし、記録は1000回行った。未処置のPL腱と腱鞘内滑膜腱である正常な長趾屈筋腱(FDP)をコントロールとして使用した。カルボジイミドを使用したHAの修飾には、N-ヒドロサクシンイミド(NHS)存在下で1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(EDC)によって腱表面のアミノ基とHAのカルボキシル基とを脱水縮合させた。16体の新鮮死体標本の手48本の第二、三、四指から採取した深指屈筋腱(FDP)を再建される側の腱(運動腱)として使用し、長掌筋腱(PL)と固有示指伸筋腱(EIP)そして総指伸筋腱第二指(EDCII)の合計48本を移植側の腱(移植腱)とした。各実験とも統計学的検討は、ANOVAによりP値が0.05

未満の場合を有意差ありとした。

1. 滑走抵抗を低くするための最適な HA と EDC/NHS の混合比

処理群の腱は、9 種類の異なった濃度の HA と EDC/NHS 溶液 (HA:EDC/NHS の濃度 (%), A = 0.50:0.05, B = 1.00 : 0.05, C = 2.00 : 0.05, D = 0.50 : 0.25, E = 1.00 : 0.25, F = 2.00 : 0.25, G = 0.50 : 1.00, H = 1.00 : 1.00, I = 2.00 : 1.00) と、10%ゼラチンの混合物中に 37°C で 30 秒間浸し、その後、生理食塩水で湿らせた 37°C のタオルの中で 1 時間静置した。腱滑走抵抗計測後に腱の中央部分 5mm を採取し、ピオチン化ヒアルロン酸結合蛋白 (bHABP) を使用して腱表面の HA を染色した。

2. 滑走抵抗の低いグループに対する最適な静置時間

上記 1 で有意に低い滑走抵抗を示した 3 群 (D, G, H 群) を選び、各群に対して静置時間を 5, 30, 60 分に設定して滑走抵抗を計測した。

3. 新しい移植腱近位端縫合法

従来法の編込み部分に 90 度に交差させてマットレス縫合するクロス縫合法と、編込みの四隅にマットレス縫合を置く新しいコーナー縫合法について、物質組成計測器を使用して最大張力を計測し、破断形態を観察した。

(結果)

1. 滑走抵抗を低くするための最適な HA と EDC/NHS の混合比

処理前の PL 腱の平均滑走抵抗は 0.087 ± 0.021 N (平均値 \pm 標準偏差) で、FDP 腱 (0.063 ± 0.009 N) との間に有意な差が認められた。3 つの群 (A, B, C 群) の滑走抵抗は、未処置の PL 腱と同様に最初の 600 回程度までは徐々に上昇し、以後はほぼ一定となった。D, E, G, H, I 群の滑走抵抗は、1000 回の滑走後でも 0.29 N 以下であった。また、1000 回の模擬屈伸運動時の滑走抵抗は、HA と EDC/NHS の濃度比が 4 : 1 から 8 : 1 になると有意に上昇した。1000 回の滑走試験後も低い滑走抵抗を維持している群では、腱表面に HA の染色性を残していた。

2. 滑走抵抗の低いグループに対する最適な静置時間

D 群では静置時間が長いほど滑走抵抗は低下したが、G, H 群では静置時間の影響はみられなかった。1000 回の時点での滑走抵抗の比較では、HA の濃度が上昇するに従い滑走抵抗が下がるとはいえなかった。

3. 新しい移植腱近位端縫合法

いずれの縫合法も編込み数に比例して有意に張力は増加したが、両縫合法間に有意差はみられなかった。破断形態は、クロス縫合法では 60% が引き抜きであったが、コーナー縫合法では全例腱断裂であった。

(考察)

腱周囲組織との癒着対策として、保湿性と潤滑性を併せ持った HA が注目されているが、HA は局所存在の半減期が 3 日程度と短く、局所で高濃度に保つためには HA と腱との間に強い結合を持続させることが必要である。カルボジイミドによる HA の修飾反応は、既に修飾反応 HA フィルムとして使用されている手法であるが、濃度や配合比についての検討はなされていない。今回の研究によって EDC/NHS が HA を活性化すること、高濃度の HA は決して効果が高いわけではなく、EDC/NHS の濃度が低い場合にはその役割を果たさないことが示され、腱表面と交差結合する効率のよい HA と EDC/NHS の濃度と比率を明らかにすることができたと考える。

近位移植腱縫合部では、しばしば術後断裂が合併するが、移植腱の再血流獲得のためには腱中央の長軸の腱内血行の再開が重要である。新しい縫合法は中央部の血流障害を避けるべく中央部に糸をかけず、編込み

部分の隅にマットレス縫合を置く手法であるが、クロス縫合法と同程度の強度を得ることができたと考える。

(結論)

HA の濃度と EDC/NHS との配合比が HA の結合力を決定していること、HA の濃度より EDC/NHS の濃度の方がより重要な役割をしていることがわかった。このことは、臨床において HA による表面加工を行う上で大変重要な点である。新しい縫合法は、従来法に比して縫合部の張力には差がなく、腱血流再開に重要な腱中央部の侵襲を避けることができ、近位端断裂の合併症の低減が見込まれる。

審 査 の 結 果 の 要 旨

カルボジイミド反応を使用した HA の修飾技術による腱表面加工を用いて、HA の長時間の腱表面への付着の確認と至適な薬剤濃度と静置時間を明らかにして、この技術の臨床応用の可能性を示唆した。また、移植腱の近位縫合部の断裂に対して、新しい縫合法を開発し、その特性を調べ、臨床応用の可能性を示唆した。このことは、これからの整形外科領域における腱断裂に対する治療成績の向上に寄与すると評価できる。

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。