

筑 波 大 学

博 士 （ 医 学 ） 学 位 論 文

25
5416
1009
(109)

膝前十字靱帯各線維束の意義と
変形性膝関節症における
関連についての研究

2 0 0 9

筑波大学大学院博士課程人間総合科学研究科

渡辺 新

寄贈
渡辺
新
氏

10008747

目次

略語一覧

第一章 膝前十字靱帯と変形性膝関節症および本研究の背景・目的……4

- I 膝関節・膝前十字靱帯（ACL）について
- II 変形性膝関節症（OA）
- III 変形性膝関節症と膝前十字靱帯との関連
- IV 本研究の目的

第二章 ヒト変形性膝関節症における膝前十字靱帯各線維束の 組織学的変性度評価についての研究……………12

- I 序言
- II 対象と方法
- III 結果
- IV 考察
- V 小括

第三章 家兎膝前十字靱帯各線維束損傷モデルについての研究……………19

- I 序言
- II 対象と方法
- III 結果
- IV 考察
- V 小括

第四章	総合考察	27
第五章	結論	29
表		30
図		37
謝辞		65
引用文献		66
学会発表		72
参考論文		

略語一覧

ACL	Anterior Cruciate Ligament (前十字靱帯)
AM 束	Antero-Medial 束 (前内側線維束)
FTA	Femoro-Tibial Angle
HE 染色	Hematoxylin Eosin 染色
NWI	Notch Width Index. 大腿骨の顆間窩の狭小を示す指標
OA	Osteoarthritis (変形性関節症)
PCL	Posterior Cruciate Ligament (後十字靱帯)
PL 束	Postero-Lateral 束 (後外側線維束)
TKA	Total Knee Arthroplasty (人工膝関節置換術)

第一章

膝前十字靱帯と変形性膝関節症および本研究の背景・目的

I 膝関節・膝前十字靱帯（ACL）について

膝関節（大腿・脛骨関節）は人体の中で最大の荷重関節であり、関節の運動は、骨の形態、靱帯、半月板、筋肉、腱などにより制御されている。

関節軟骨は粘弾性体であり、動作時の衝撃緩衝作用や、膝の屈曲伸展運動時の関節潤滑に役立っているが、関節軟骨は変形性関節症の進行に伴い関節の摩擦係数が増え、関節潤滑能が低下することが知られている。また膝関節内には、内外側に半月板が存在し、膝の屈曲伸展に伴いその形態を変化させ、荷重を分散し、関節軟骨と同様に衝撃の緩衝作用と関節潤滑を行っている。粘弾性特性を有している靱帯は骨と骨を連結する結合組織で、膝の屈曲伸展可動域の自由度が高い膝関節では、関節の安定化機能に重要な役割を担っている。膝関節には、前十字靱帯（ACL）、後十字靱帯（PCL）、内側側副靱帯（MCL）、外側側副靱帯（LCL）の4つの大きな靱帯が存在する。さらに膝関節の構成体としては、関節包やそれを裏打ちしている滑膜も存在する（図1）。

膝関節における疾病の病態を理解する上で、これらの膝関節の構成体を理解することは重要である。なかでもACLは、膝関節において最も重要な構造物の一つである（図2）。ACLはエジプトのパピルスにも記述されていたとの報告もあり、その認識は紀元前3000年にまでさかのぼる。またヒポクラテスがACL損傷による膝の亜脱臼を報告したとされている[82、84]。ACLは大腿骨外顆と脛骨顆間隆起に付着し、大腿骨に対する脛骨の前方制動や回旋制動の役割を担っている。その長さは約32mm、中央部横径は約10mmとされており、断面積は近位に比べ遠位が大きくなっている[12]。ACLはスポーツや高エネルギー外傷にて損傷さ

れる頻度の高い靱帯の一つであり（図 3）、男性より女性での発生頻度が多いとされている。ACL は血流の乏しい関節内に位置しており、ACL をいったん損傷すると自然治癒することは難しく、スポーツ現場への復帰には膝関節の安定性の再獲得のため、外科的再建が標準的治療とされている。また ACL 損傷を放置しておくと、前方への不安定性のため、関節軟骨や半月板に異常な剪断力と衝撃が繰り返し加わることにより、将来的に変形性膝関節症へと進展することが指摘されている[27、57]。

近年 ACL の形態解剖・機能解剖が解明され、ACL は 2 つの線維束から構成されることが明らかとなった[12、14、15、54、82、84]。Girgis らは、ACL を 2 つの線維束に分け、前内側線維束（antero-medial:AM 束）と後外側線維束

（postero-lateral:PL 束）と名付けた（図 4A）。その名前は脛骨に付着する部位によって決められている。すなわち AM 束は ACL の脛骨付着部の前内方に位置し、PL 束は ACL の脛骨付着部の後外側に位置する。また AM 束と PL 束の 2 つの線維束は、膝の屈曲伸展に伴い異なった機能を有している。Sakane らは、脛骨前方引き出し時における前方制動は、膝屈曲位では AM 束が優位に働き、膝伸展位付近では PL 束が優位であるとし、AM 束が膝屈曲位で緊張し、PL 束は膝伸展位付近で緊張することを報告している（図 4B）[54]。また膝伸展位付近では、PL 束は AM 束より回旋安定性に寄与すると Gabriel らは報告している[14]。両線維束は力学的特性も異なっており、Dede らは靱帯の最大破断強度が AM 束では $600 \pm 169\text{N}$ 、PL 束では $246 \pm 110\text{N}$ 、剛性はそれぞれ $152 \pm 25\text{N/mm}$ 、 $82 \pm 32\text{ N/mm}$ であったとし、いずれも AM 束が高いとしている[10]。このため近年 ACL 再建においては、従来行われていた 1 重束再建術から、両線維束を再建するより解剖学的な 2 重束再建術が行われるようになり、Muneta らや Yasuda らにより良好な成績が報告されている[42、78]。また ACL 損傷として 1 つに捉えられていた損

傷形態も、AM 束損傷や PL 束損傷といった ACL 部分損傷の概念が出てきており [11、52、60、61、83]、ACL の 2 つの線維束が現在注目されている。

またヒトと同様に、家兎、ヤギ、ブタ、イヌ、ヒツジなどの動物においても ACL は 2 つの線維束からなることが知られており、現在までに力学的特性などの研究がなされている [76、77]。

Ⅱ 変形性膝関節症

変形性関節症（OA）とは、関節軟骨の変性による軟骨の磨耗、それに対する反応性の骨増殖をきたす退行性関節疾患である。加齢変化を基盤とした変形性関節症は、高齢化社会において増加しており、なかでも変形性膝関節症は実際の診療で最も多く遭遇する疾患の一つである（図 5、6）。その症状としての膝関節痛、可動域制限および膝の腫脹は、高齢者の日常活動性と生活の質を阻害する原因の一つである。変形性膝関節症の発生頻度は 50 歳を過ぎると急激に増加し、60 歳以上では人口の 80%以上に何らかの X 線上の変形性変化が出現し（図 7）、そのうち約 40%が症状を有し、さらにその約 10%が日常生活に支障をきたしていると言われている[71]。わが国では、1 年間に新たに約 90 万人の患者が発生していると推定されている[40]。また、女性の罹患率は同年代の男性の 1.5 ～2.0 倍である[49]。

【膝 OA の分類】

明らかな成因を特定できない一次性膝関節症と、特定される原因をもった二次性膝関節症に分類される。頻度としては一次性が約 90%以上で、残りが二次性とする報告がある[75]。

① 一次性膝関節症

加齢、性別、肥満などが一次性関節症に関連するとされている。

加齢は OA の発生を有意に増加させ、同時に進展のリスクファクターともなっている[49、85]。欧米の白人、日本人、中国人における年代別の膝 OA の発生率は人種を問わず同一の傾向であり、男女ともに加齢とともに発生率は増加する。一方では、人種により差異があるとする報告もある。Zhang らは、中国人女性が白人女性に比べて有意に膝 OA が多いと報告した[85]。また、日本人女性が白人

女性に比べて 1.9 倍膝 OA の危険度が高いとする報告もある[79]。

過去の報告において、肥満と膝 OA との有意な関係が示されている。肥満の指標として BMI (body mass index) が用いられることが多く、BMI>25 の場合、男性でオッズ比が 2.63、女性で 3.11 となり、危険度が増加すると報告している[49]。肥満が膝 OA に影響するメカニズムとして、下肢のアライメントや関節の不安定性、筋力などとの関連で膝関節にかかる力学的負荷の作用が言われている。

また重労働や膝の屈曲伸展を多用する仕事では、有意に膝 OA の発生率が高い。日常生活動作においては、しゃがみ込み動作や階段昇降が膝 OA を増加させる[85]。下肢筋力と膝 OA との関連も報告されており、膝 OA の病期の進行に伴い大腿四頭筋力の低下がみられる。また内反膝も膝 OA 発症の危険因子であるとされている。

② 二次性膝関節症

二次性の原因とされるものは多様で、外傷、炎症性、代謝性疾患などが挙げられる。表 1 に二次性関節症の原因となるものを示す。

なかでも ACL 損傷を含む膝外傷は二次性 OA の最も高いリスクファクターの一つである。

【病態生理】

OA の初期変化において組織レベル、細胞レベル、さらには分子レベルで何が起きているのか OA の病態を解明することは非常に重要であり、その解明が新しい治療法・予防法の開発につながる可能性をもつ。

膝関節は、軟骨、滑膜、軟骨下骨、半月板、靱帯など多くの構成体より成り

立っており、OA ではこれらのすべての構成体が影響を受けることが知られている。

メカニカルな過負荷を受けた軟骨は表層よりダメージを受け、軟骨の変性は表層より深部へ拡大する。OA の進行による関節軟骨の破壊に伴い、軟骨小片や軟骨分解産物などを滑膜細胞が貪食し、免疫反応を介した滑膜炎を引き起こす。滑膜細胞は軟骨基質変性に重要な蛋白分解酵素や IL-1、TNF α 等のサイトカインなどを放出し、これがさらに軟骨細胞を刺激して、軟骨細胞自身が蛋白分解酵素を産生する事につながる。またこうした炎症により生じるサイトカインは破骨細胞にも影響し、関節周囲の骨吸収が起こり、軟骨下骨の微小骨折を引き起こす。微小骨折や骨リモデリングの亢進は、その後の軟骨下骨骨硬化の原因となり、軟骨に対するストレスはさらに増加する。軟骨の変性により軟骨は粘弾性を失い、軟骨下骨はよりメカニカルストレスの影響を受ける。軟骨変性と軟骨下骨変性のどちらが先に起こるかは未だ不明であるが、軟骨変性と軟骨下骨変性の 2 つの現象が相互に関係しながら関節の破壊が進んでいき、そこに滑膜の炎症も加わり、変形性関節症は進行していく。

Ⅲ 変形性膝関節症と膝前十字靱帯との関連

これまでに述べたように膝 OA は一次性と二次性に分類される。Wada らは、末期一次性膝 OA 患者の ACL を調べ、4 膝が肉眼的に正常で、10 膝が部分的に断裂を来し、残りの 18 膝は ACL が消失していたと報告している[73]。Lee らも 107 の一次性膝 OA を検討し、41 膝で ACL が消失していたと述べている[32]。さらに Cushner らは、一次性膝 OA にて ACL が消失せず残存していた場合でもその約 50% が組織学的に高度変性を呈していたことを示した[9]。彼らは、一次性膝 OA で OA が進行にするにつれ、損傷の既往がない ACL が変性・断裂を来すことを指摘している[9、32、75]。また Hill らは MRI を用いての検討で、360 例の一次性膝 OA の 22.8% で ACL が完全に消失していたとし、さらに X 線上進行している一次性膝 OA で ACL が消失している率が高いことも述べている[23]。一方、ACL 損傷は二次性膝 OA のリスクファクター[27、57]とされており、Indelicato らは、陳旧例の ACL 損傷では約 54% に軟骨損傷が存在したとし[27]、Segawa らは 89 名の ACL 損傷患者を追跡調査し、平均 12 年後にその 63% が OA 変化を示したと報告している[57]。さらに家兎やイヌなどの動物モデルにおいては、ACL 全損傷モデルは再現性の良い OA のモデルとして、広く利用されている[5-8、16-19、24、51、58、59、66、72、74、80、81]。

過去の一次性・二次性膝 OA と ACL に関する報告では、ACL を 1 つの線維束として評価しており、異なる機能を有する AM 束と PL 束の 2 つの線維束に分けて評価した報告はない。著者は、異なる解剖と機能を有する ACL の AM 束と PL 束は、膝 OA に関連して異なる影響を受けるのではないかと考え、膝 OA と ACL を構成する 2 つの線維束との関連について調べることにより、膝 OA と ACL の関連についての新たな知見が得られるのではないかと考えた。

IV 本研究の目的

前述のように一次性膝 OA の進行に伴い ACL は変性を来し、やがては断裂・消失に至ること、また ACL 損傷・断裂により二次性膝 OA が起こることが知られているが、膝 OA と ACL を構成する 2 つの線維束との関連については不明である。

本研究の目的は以下の 2 つである。

- ① 一次性膝 OA 患者における ACL を AM 束と PL 束に分け組織学的評価を行い、AM 束と PL 束は異なった変性像を呈するのかを明らかにする。
- ② 動物（家兎）を用いて ACL を AM 束・PL 束の各線維束毎に切除した部分損傷を作り、二次性の OA 変化が膝関節にどのようにあらわれるかを検討する。
さらに ACL 部分損傷膝は、現在広く使用されている ACL 全損傷膝より OA 変化が少なく、初期 OA モデルになり得るのかを検討する。

第二章

ヒト変形性膝関節症における膝前十字靱帯各線維束の組織学的 変性度評価についての研究

I 序言

一次性膝 OA の患者に対し人工膝関節置換術 (Total Knee Arthroplasty:TKA) を行う際、ACL が断裂していたり、また消失していることを見受ける。仮にその際 ACL が残存している場合でも、組織学的に ACL は変性を来していることが報告されている[9、65、73]。またその ACL の断裂・消失には、靱帯と大腿骨顆間窩の骨棘による衝突が関係しているのではないかとする報告が散見される[9、22、32、36、43、62、64、73]。

しかし過去のいずれの報告でも ACL を 1 つの線維束として評価しており、異なる機能を有する AM 束と PL 束の 2 つの線維束に分けて組織学的に評価した報告はない。

著者は AM 束と PL 束は異なる機能を有するため、一次性膝 OA 患者における AM 束と PL 束は組織学的変性度に差を認め、またその組織学的結果と年齢や X 線学的変形・重症度との間に関連があるのではないかと、さらには骨棘による大腿骨顆間窩狭小と AM 束と PL 束の組織学的変性度にも関連があるのではないかと考えた。

本研究の目的は、以下の 3 つである。

1. 一次性膝 OA 患者における ACL を AM 束と PL 束とに分け組織学的評価を行い、一次性膝 OA と AM・PL の変性の関連について検討する。
2. 組織学的評価の結果と年齢や X 線学的変形・重症度との間に関連があるかどうかを調べる。

3. 大腿骨顆間窩狭小が AM 束と PL 束の組織学的変性と関連があるかどうかを調べる。

II 対象と方法

本研究は筑波大学医の倫理委員会によって承認を受けた。

対象

2006 年 7 月から 2008 年 6 月までに筑波大学附属病院および関連病院にて施行された TKA の際に ACL を採取し得た一次性膝 OA 患者 39 例（男性 10 例、女性 29 例）49 膝を対象とした。過去に膝外傷の既往や靱帯損傷の既往のある患者は除外した。手術時の平均年齢は 72 ± 6 （60～84）歳であった。

方法

TKA 手術の際に大腿骨および脛骨付着部から ACL を鋭的に切離、採取した（図 8A）。表層に存在する滑膜や脂肪組織を注意深く除去し、AM 束と PL 束の間を確認後、ACL を AM 束と PL 束に分離し（図 8B）、10%中性ホルマリンにて固定した。切片は靱帯中央部・長軸方向で切り出し、パラフィン包埋後、厚さ $2 \mu\text{m}$ の薄切標本を作成した。HE、Masson' s trichrome（コラーゲン線維の走行を見るため）、Alcian blue（ムコイド変性を見るため）にて染色後、光学顕微鏡下に靱帯の全長に対して組織学的評価を行った。変性度の組織学的評価は、Kleinbart らの方法に準じ[31]、normal（図 9）、slight、mild、moderate と marked degeneration の 5 段階にわけて行った（表 2）。さらに normal、slight、mild degeneration を軽度変性群、moderate、marked degeneration を高度変性群とした。また、個々の症例に対し、AM 束と PL 束のどちらの変性が強いかを以下の 3 つの群に分けた：AM>PL Group（AM 束が PL 束より変性が高度）、AM=PL Group（AM 束と PL

束の変性度が同じ段階)、AM<PL Group (PL 束が AM 束より変性が高度)。

また、手術時の年齢、術前の X 線立位 femoro-tibial angle (FTA) (図 10)、Kellgren-Lawrence (K-L) grade[29] (表 3) を、AM と PL それぞれ軽度変性群と高度変性群について比較検討した。

加えて 28 例 35 膝については、術前に撮影した X 線：Rosenberg 撮影 (23 膝) または CT (12 膝) より大腿骨顆間窩狭小化の指標である顆間窩横径の大腿骨顆部に対する比 Notch Width Index (NWI) を Wada らの方法に準じ算出し (図 11) [73]、AM 束・PL 束それぞれ軽度変性群と高度変性群について比較した。

統計学的検討は、Mann-Whitney' s *U*-test または Welch' s *t*-test を用い、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

III 結果

AM 束と PL 束の組織学的評価を表 4 に示す。Normal は AM 束の 6 膝、PL 束の 2 膝に認められたのみであった。49 膝中 AM 束の 26 膝 (53%) が、moderate 以上の高度変性を呈し、一方 PL 束の 38 膝 (78%) も moderate 以上の高度変性を示した。組織学的変性においては、PL 束が AM 束より有意に高度に変性を来していた ($p < 0.05$)。変性度別に分類すると、AM は軽度変性群が 23 膝、高度変性群が 26 膝となり、PL は軽度変性群が 11 膝、高度変性群が 38 膝となった。

また個々の症例に対しての AM 束、PL 束の組織学的変性度の比較は、49 膝中 30 膝で AM 束と PL 束が同様の変性度となり (AM=PL Group) (図 12)、残りの 19 膝は PL 束が AM 束より変性が高度であった (AM<PL Group) (図 13)。AM 束が PL 束より変性が高度であった症例はなかった。

年齢、FTA、K-L grade と変性度別の比較を表 5、6 に示す。

AM 束内の軽度変性群と高度変性群の比較では、両群間に年齢、FTA、K-L grade

に差を認めなかった（表 5）。PL 束内でも同様に、両群間に差を認めなかった（表 6）。

NWI を計測し得た 28 例 35 膝を組織学的に変性度別に分類すると、AM 束は軽度変性群が 19 膝、高度変性群が 16 膝となり、一方、PL 束は軽度変性群が 9 膝、高度変性群が 26 膝となった。さらに AM 束の軽度変性群・高度変性群の NWI はそれぞれ 0.16 ± 0.04 、 0.14 ± 0.06 であったのに対し（ $p > 0.05$ ）、PL 束の軽度変性群・高度変性群の NWI はそれぞれ 0.17 ± 0.03 、 0.14 ± 0.06 であり（ $p < 0.05$ ）、PL 束においては高度変性群で NWI が有意に小さい値を示した（図 14）。

IV 考察

一次性膝 OA の後十字靭帯（PCL）に関する組織学的報告は多いが[1-3、31、41、44、63]、PCL と比較して ACL を組織学的に評価した報告は少ない[3、9、41、65、70]。Allain らは、TKA 施行時に OA 膝の 52ACL について組織学的に評価し、ACL の 46% が組織学的に高度変性を来していたとしている [3]。Cushner らも 16 例 19 膝を検討し、同様に約半数の ACL が moderate から marked の変性を来していたとしている [9]。また、Mullaji らは 41 の OA 膝の ACL を検討し、40% で組織学的に高度変性を呈した ACL だったとしている [41]。本研究では、ACL のうち AM 束の 53%、PL 束の 78% が組織学的に高度変性を来していた。本研究での AM 束の高度変性の割合と他の研究の ACL の高度変性の割合は同等であった。しかしながら、PL 束で見られた高度変性の割合は、他の高度 ACL 変性の割合よりも高かった。さらに個々の症例において、約 2/3 の症例で AM 束と PL 束は同等の変性度を示し、残りの 1/3 においては、PL 束が AM 束より高度変性を呈していた。

膝 OA における ACL 変性に関しては、大腿骨の顆間窩狭小や顆間窩骨棘との関

連が指摘されている [9、22、32、33、36、43、62、64]。Leon らは、69 の OA 膝の大腿骨顆間窩骨棘の程度を調べ、4 つのタイプに分類している [33]。外側と前方に骨棘が存在する TypeⅢが 48%と最も多く、外側に骨棘が存在する TypeⅡも 20%で見られたとしている。PL 束は AM 束より外側に存在し、外側の骨棘により衝突を受け、それにより PL 束は AM 束より変性を来しやすいのではないかと考える。また OA 膝の大腿骨顆間窩骨棘による狭小と ACL の断裂や消失との関連においては、その狭小に関して NWI を用いて報告したものが多し。ACL が肉眼的に正常な場合には NWI は 0.17 から 0.22 であり、部分断裂・部分消失では 0.10 から 0.13、ACL 断裂・消失では 0.08 から 0.11 と報告されており、いずれの報告においても ACL が正常なものと比較して、ACL が部分消失もしくは消失の場合に NWI は有意に低値を示している [43、64、73]。今回の我々の研究でも、PL 束の高度変性群においては、軽度変性群と比較して有意に小さい NWI を示していた。ただし、AM 束に関しては軽度変性群と高度変性群の間で NWI に同様の傾向を認めたが、統計学的に有意とは言えなかった。PL 束の組織学的変性においては、大腿骨顆間窩骨棘による狭小が関係していることが示唆された。また、ムコイド変性と呼ばれる靱帯の退行性変化を来していた PL 束が大腿骨外側顆と衝突を来していたという報告 [25、30、38] や、1215 例の膝 MRI において、PL 束がよりムコイド変性を来していたという報告 [55] も今回の我々の結果を支持する。最後に、Dede らが述べているように PL 束は AM 束より断面積が小さく [10]、また Iwahashi や Li らが報告しているように PL 束は AM 束より膝伸展・屈曲に伴う長さ変化が大きい [28、34] ことにより、より力学的負荷がかかり、PL 束は AM 束と比較して高度変性を呈したのではないかと考える。このことは、ACL2 重束再建術後の関節鏡所見において、AM 束の再断裂症例は見られなかったが、PL 束の再断裂症例を認めた臨床的事実からも裏付けられる [50]。

本研究では、患者の年齢、術前の X 線による FTA、X 線による K-L grade を、靱帯の組織学的評価からの結果を基に、AM 束および PL 束を変性軽度と高度に分けて比較した。しかしながら、これらの臨床データと各々線維束の組織学的差異との間に関連は認められなかった。OA 膝の PCL に関する研究では、本研究と同様、年齢や術前の X 線 grade・膝の FTA と PCL の組織学的変性度との間に関連性は無かったとしている [1、63]。つまり OA 膝における ACL と PCL の組織学的変性度については、術前の年齢や X 線学的重症度・変形というデータからは予測できないことが示された。

本研究の問題点として、対照群として OA のない正常膝での靱帯の組織学的評価の欠如が挙げられる。Cushner らは、OA のない 25 膝の ACL を組織学的に評価し、それらにおいては組織学的に高度変性を呈したものは無かったとしており [9]、OA がいない膝の ACL に関しては高度変性を呈していないものと推察する。

一次性膝 OA と ACL の各線維束との関連は今までのところよく分かっていなかったが、本研究により一次性膝 OA における ACL の変性に関しては、その線維束の 1 つである PL 束が有意に高度変性を呈していることが分かった。また OA が進行するにつれ ACL が変性し消失に至る詳細な過程は不明であったが、本研究より PL 束が先行して変性から消失に至り、その後 AM 束が変性し消失に至るという過程が考えられ、一次性膝 OA における ACL の変性過程の解明に役立つのではないかと考える。

V 小括

- ・ 一次性膝 OA における ACL の組織学的評価では、PL 束は AM 束より高度に変性を呈していた。
- ・ 臨床データと AM 束・PL 束の組織学的変性との間には関連は認められなかった。
- ・ 大腿骨顆間窩狭小の指標である NWI においては、AM 束、PL 束それぞれ組織学的に高度変性群において NWI が小さい傾向があり、特に PL 束では軽度変性群と高度変性群との間で NWI に有意差を認めた。
- ・ AM 束と比較しての PL 束の有意な組織学的変性に関しては、大腿骨顆間窩骨棘による狭小が関連していると考えられる。

第三章

家兎膝前十字靱帯各線維束損傷モデルについての研究

I 序言

ACL 断裂・損傷は二次性 OA を来すリスクファクターとされ [27]、長期的観察においては、OA をきたすとされている [58]。現在までにヒト ACL 部分断裂・損傷の報告は散見されるが [11、13、45、52、60、61、84]、その自然経過に関しては、ACL 完全断裂と比較し予後良好とする報告と [4]、靱帯不全症状は残存すると述べる報告とがある [56]。しかしながら、AM 損傷または PL 損傷と言った各要素の単独損傷についての自然経過と、OA の出現について報告したものはない。

家兎 ACL 全切除モデルは、6～12 週で OA 変化を来とし、OA のモデルとして広く用いられている [5、8、16、17、24、26、51、58、66、72、74、80、81]。一方、家兎 ACL 部分切除モデルの靱帯の治癒や力学的評価をおこなった研究は存在するが [20、48]、滑膜や軟骨に対する影響を検討した報告はない。

変形性膝関節症の初期には軟骨変性近傍部に骨吸収が起こり、骨密度が低下するという動物モデルでの報告が散見される [5、6、7、18、19、39、59]。またヒトにおいても変形性膝関節症と骨粗鬆症が合併するとの報告がある [37]。Radin らは、軟骨下骨の骨強度の不均一によりその上にある軟骨に剪断力がかかり軟骨破綻を来すとし、軟骨変性に先行して軟骨下骨変化が起こると報告している [53]。

著者は ACL 部分損傷は、ACL 全損傷より二次性の OA 変化・骨密度低下が少なく、コントロール群よりは二次性の OA 変化を来とし、初期 OA モデルになり得るのではないかと、また AM 束と PL 束の部分損傷群間で膝関節に及ぼす影響が異

なるのではないかという仮説を考えた。

本研究の目的は、家兎を用いて ACL を各線維束毎に切除した部分損傷モデルを作成し、膝関節（滑膜、軟骨下骨、軟骨）にどのような影響を及ぼすかを検討することである。さらに家兎 ACL 部分損傷モデルが初期 OA モデルになり得るかどうかを検討する。

II 対象と方法

本研究は筑波大学動物実験センターの倫理規定に従って行った。

【実験 1】

日本白色家兎雄（体重約 3kg）48 羽の右膝関節（図 15）を用い、コントロールとして sham 群（関節包のみを切開し靱帯は切離さない群）、AM 群（ACL の AM 束のみ切除した群）、PL 群（ACL の PL 束のみ切除した群）、ACL 群（ACL を全切除した群）を、各群 n=12 で手術を行い、6 週・12 週で半数ずつ安楽死させた。

滑膜を膝蓋下脂肪体上より採取し、10%中性ホルマリンにて固定した。パラフィン包埋後、厚さ $2\mu\text{m}$ の薄切標本作製し、HE 染色を行った。大腿骨遠位・脛骨近位は関節面より 2cm の所で切断・採取し、小動物用 CT (LaTheta; LCT-100, アロカ社, 東京) にて海綿骨骨密度を測定した。その後、大腿骨・脛骨ともに中央部で 2 分割し、10%中性ホルマリンにて固定した。EDTA 溶液にて脱灰、パラフィン包埋後、厚さ $5\mu\text{m}$ の薄切標本作製し、サフラニン O 染色を行った。

検討項目として、①滑膜は Yoshimi らのスコア（表 7）を用いて炎症の程度を評価 [80]、②大腿骨遠位・脛骨近位の海綿骨骨密度 (mg/cm^3)、③軟骨変性の程度は、大腿骨・脛骨のそれぞれ内外側関節面を modified Mankin スコア（表 8）を用いて算出し [35、80]、それらの合計したものを関節全体のスコアとして評価した。

統計は、滑膜と軟骨のスコアに対しては、Kruskal - Wallis test、Steel - Dwass test を、骨密度に対しては、ANOVA、Tukey - Kramer test を用い、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

【実験 2】

実験 1 の長期観察目的の為、日本白色家兎雄（体重約 3kg）10 羽の両膝関節を用い、実験 1 と同様に sham 群、AM 群、PL 群、ACL 群を、各群 $n=5$ で手術を行い、術後 24 週で安楽死させた。

評価・検討項目は実験 1 と同様に行い、また統計は、滑膜と軟骨のスコアに対しては Kruskal- Wallis test、Steel test を、骨密度に対しては ANOVA、Scheffe' s F test を用い、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

III 結果

【実験 1】

術中および術後に死亡した家兎はなかった。

滑膜組織スコアは 6 週では、sham 群 3.3 ± 3.5 、AM 群 8.4 ± 2.0 、PL 群 8.5 ± 2.7 、ACL 群 11.8 ± 3.0 で、sham 群と ACL 群との間に有意差を認めた（図 16）。12 週ではそれぞれ 1.6 ± 1.2 、 7.2 ± 1.9 、 7.4 ± 1.4 、 11.4 ± 2.1 となり、ACL 群および部分損傷群は、sham 群と比較して有意に高値を示した。また ACL 群と部分損傷群間にも有意差を認めたが、AM 群と PL 群では有意差はなかった（図 17）。

組織像では sham 群と比べてその他の 3 群では、滑膜下組織への血管新生を認め、さらに AM 群と ACL 群においては、滑膜表層への炎症細胞浸潤や滑膜表層細胞の過形成が見られた（図 18）。

6 週の大腿骨・脛骨の海綿骨骨密度 (mg/cm^3) はそれぞれ、sham 群 376 ± 30 、

436±20、AM 群 342±22、438±23、PL 群 353±38、417±28、ACL 群 274±31、366±37 であり、大腿骨・脛骨ともに ACL 群は他の群と比較して有意に低値を示した。sham 群と部分損傷群との間には明らかな差は認めなかった (図 19)。12 週の大腿骨・脛骨の骨密度 (mg/cm³) は、sham 群 304±12、405±23、AM 群 326±22、412±19、PL 群 314±20、411±42、ACL 群 275±34、380±31 であり、大腿骨の骨密度においては、ACL 群は部分損傷群に対し有意に低い値を示した。また 6 週と同様に、sham 群と部分損傷群との間には有意差は認められなかった。脛骨の骨密度は、4 群間で明らかな差を認めなかった (図 20)。

肉眼所見において、sham 群、AM 群、PL 群と比較して ACL 群は明らかな軟骨変性・消失を認めた (図 21)。

軟骨変性スコアは、6 週では sham 群 3.4±3.7、AM 群 11.3±3.7、PL 群 13.2±7.8、ACL 群 27.1±14.8 であり、sham 群と比較し ACL 群で明らかな有意差を示した (図 22)。また 12 週においてのスコアはそれぞれ、6.8±2.4、18.3±9.2、13.8±5.4、37.3±27.2 となり、sham 群と ACL 群だけでなく sham 群と AM 群との間にも有意差を認めた (図 23)。

組織像では、sham 群と比較して、AM 群では軟骨基質を染色するサフラニン 0 の染色性が低下し、表層に亀裂が見られる。また PL 群では、サフラニン 0 の染色性は保たれているが、表層の不整、亀裂が認められる。ACL 群は、サフラニン 0 の染色性の低下と、軟骨層の部分欠損・消失を呈した (図 24)。

【実験 2】

術後に 1 羽が死亡したため、sham 群 (n=4)、AM 群 (n=5)、PL 群 (n=5)、ACL 群 (n=4) となった。

滑膜組織スコアに関しては、sham 群 1.0±0.8、AM 群 7.3±2.3、PL 群 4.0±

1.8、ACL 群 9.0 ± 2.3 となり、sham 群と比較して他の 3 群は有意に高い値を示した (図 25)。

組織像では、sham 群は滑膜表層や滑膜下組織への炎症細胞浸潤を認めないが、AM および PL 群では、滑膜表層細胞の過形成や、滑膜下組織に血管新生を認めた。また ACL 群においては、さらに炎症細胞の浸潤も認めた (図 26)。

大腿骨・脛骨の骨密度 (mg/cm^3) はそれぞれ、sham 群 280 ± 37 、 351 ± 38 、AM 群 257 ± 26 、 321 ± 50 、PL 群 259 ± 22 、 320 ± 16 、ACL 群 251 ± 17 、 323 ± 24 で、大腿骨・脛骨ともに 4 群間に明らかな差を認めなかった (図 27)。

軟骨変性スコアは、sham 群 6.5 ± 5.3 、AM 群 23.6 ± 3.4 、PL 群 13.8 ± 2.3 、ACL 群 49.0 ± 26.4 となり、sham 群と比較して他の 3 群は有意に変性を呈していた。(図 28)。

組織像において、AM 群では深層にいたる複数の亀裂が見られる。PL 群では、サフラニン O の染色性は保たれているが、表層の不整、中間層に至る亀裂が認められている。ACL 群では、軟骨層はほぼ欠損・消失している (図 29)。

IV 考察

家兎 ACL 部分損傷モデルにおいては、Hefti らが、その治癒過程を調べるために ACL の一部を切離して行っているが [20]、AM 束と PL 束とにわけてはいない。また大山らは前内側と後外側に分けて切断しているが、靱帯の治癒や力学的評価のみで、関節への影響は検討していない [48]。本実験は、AM 束と PL 束とに分けて関節への影響を見ており、その点に独創性がある。

家兎 ACL においては、Woo らが内外側の線維束にわけての検討をおこない、断面積・力学的特性で両者に差は無かったと述べている [76]。本実験において ACL 部分損傷の AM 群・PL 群間で、滑膜・軟骨・骨密度に対する影響に実験 1、2 と

もに明らかな有意差が無かったのは、このような特性が原因と考える。

また Heiner らは、家兎の通常肢位である膝 135° 屈曲位では、家兎 ACL を 50% まで切離しても stiffness の低下は起こらなかったと報告している [21]。この結果より、6 週での本研究において、sham 群と ACL 部分損傷群である AM 群・PL 群との間で、軟骨変性・骨密度に差を認めなかったのではないかと推察する。

しかしながら 12 週においては、sham 群と AM 群との間に軟骨変性の差が見られた。大山らは外側温存群（本実験では AM 群に相当）では、靱帯の力学的強度が 12 週では減少すると述べ [48]、さらに Tochigi らは家兎 ACL の内側半切除（本実験の AM 群に相当）において、膝関節は軽度の不安定性を有し、術後 8 および 16 週において、軽微な OA を呈したと報告している [67、68、69]。これらの結果は本実験の結果を支持するものと考ええる。また 24 週という長期観察において sham 群と AM 群のみではなく、sham 群と PL 群間にも軟骨変性の有意差を認めた。PL 群に関しての膝不安定性に関する報告は無いが、AM 群と同様に長期的には軽度の不安定性を呈し、24 週で PL 群が sham 群と比較して有意な軟骨変性を示したのではないかと推察する。また臨床的関連として、ACL 部分損傷に関しては、その不安定性の残存やスポーツ現場への復帰に関する報告があったが [4、45、57]、本研究から ACL 部分損傷の放置では軽度の OA を呈する事が示唆され、ACL 部分損傷に対しては ACL 部分再建 [46、47、61] を考えるべきなのかもしれない。

滑膜炎および軟骨変性に関しては、長期観察で sham 群と他の 3 群間に有意差を認めた。家兎 ACL 全切除モデルは、OA モデルとして用いられているが、進行した OA を呈し、初期 OA モデルとしては有用でない。本家兎 ACL 部分損傷—特に AM 群—は、12 週および 24 週でも軽度の滑膜炎と軟骨変性を来し、Tochigi らも述べるように初期 OA モデルとしての可能性を有する [67、68、69]。

Batiste らは家兎 ACL 損傷モデルを用い、軟骨変性とマイクロ CT を利用しての骨密度に関する研究を行っており、OA の進行に伴い 8 週までは骨密度は低下したが、12 週では回復したと述べている [5]。本研究でも ACL 群は、6 週で大腿骨・脛骨ともにコントロール群と比較して骨密度の低下を示し、12 週・24 週では有意差が無くなり、Batiste らと同様の結果を示した。

OA の進行に伴い骨密度が低下する事に対し、Batiste や Boyd らは、ACL 損傷により引き起こされた OA モデルの骨代謝には 2 つの段階があると述べている [5、6、7]。まず 3 から 4 週の早期には海綿骨の骨密度低下が起こり、その後の段階で軟骨下骨の骨硬化・増加が起こる、と考察している。また彼らは 3 から 4 週で骨密度が低下する理由として、ACL 損傷による関節不安定性の出現と疼痛により下肢を使用しないことに起因する荷重負荷が変化したことによるものと推察している。また Hayami らはラットの ACL 損傷による膝 OA モデルにおいて、サイトカインにより誘導された破骨細胞の有意な増加を認めたとし、破骨細胞における骨吸収亢進も骨密度の低下に関与していると考え [18]。本研究の ACL 部分損傷は、6・12・24 週のすべての期間においてコントロール群との間で骨密度の差を認めなかった。ACL 部分損傷モデルでは、骨密度の低下を伴うような荷重負荷の変化を来さないのか、もしくは今回我々が検討した 6 週よりも早期に骨密度の低下を来している可能性を考える。

本研究の限界として、滑膜や軟骨の炎症性サイトカインなどの免疫染色の欠落や、関節液などのサイトカイン濃度測定 of 欠落が挙げられる。また組織学的に OA と判断されるより早期に、軟骨細胞はアポトーシスを来しているとする報告が見られる [17、74]。今回 6 週では、コントロール群と ACL 部分損傷群間で軟骨変性の差を認めなかったが、アポトーシス関連因子などの測定を行えば、6 週時点での相違を捉えることができるのかもしれない。さらに AM 群に関しては、

Tochigi らが関節の不安定性を調べており、前述するように軽度の不安定性を報告しているが、PL 群に関しての膝不安定性に関するデータは無く、今後必要と考える。

V 小括

- ・家兎 ACL 部分損傷は、骨密度の低下を認めなかったが、膝関節の不安定性に起因すると思われる軽度の滑膜炎と軟骨変性を呈した。

- ・AM 群は 12 週より、PL 群は 24 週より二次性の OA 変化を示した。

- ・家兎 ACL の AM 切除群は、コントロール群より OA 変化を呈し、全切除群よりは少ない OA 変化を来し、本モデルは初期 OA モデルになり得ると考えた。

第四章

総合考察

膝 OA は一次性と二次性に分類される。本研究で取り上げたヒト OA に関するデータは一次性と考えられ、また家兎 ACL 部分損傷による OA は二次性と考える。現在までに一次性・二次性ともに膝 OA と ACL の AM 束・PL 束との関連について調べた研究は無く、膝 OA と ACL の 2 つの線維束を調べることにより新たな知見が得られる可能性を考えた。

ヒト一次性膝 OA に関する研究においては、ACL の 2 つの線維束のうち、PL 束が AM 束より高度変性を来していることがわかった。その理由として PL 束は膝の回旋制御にも寄与しており、さらにその解剖学的位置から狭小化した大腿骨顆間窩内で AM 束よりも力学的負荷を受けやすく、より変性を来したのではないかと考える。また一次性 OA の進行にともない ACL が変性し消失に至る詳細な過程は不明であるが、PL 束が先行して変性・消失に至り、次いで AM 束が変性・消失に至るという過程が考えられ、一次性膝 OA における ACL の変性過程及び OA の発症進展機構の解明に役立つのではないかと考える。

家兎 ACL 部分損傷モデルでは、AM 損傷は PL 損傷より早い時期から二次性の OA 変化を示した。ヒト膝においては、PL 束は伸展位で有意に働き、AM 束は屈曲位で有意に働く [54]。一方、家兎における AM 束と PL 束の詳細な働きは不明であるが、ヒトと同様に AM 束が屈曲位で有意に働くならば、家兎はそのほとんどを膝屈曲位でいるため、AM 損傷群で早期に二次性の OA 変化を来したのかもしれない。また現在のところ X 線学的に進行し、疼痛コントロールのできない末期の OA には手術療法が行われ、しかし一方で、若年者や早期の OA についてはその病態を変える治療法はなく対症療法を行っているのが実情である。こうした

状況下で薬物治療を含め、新しい治療法が模索されているが、初期 OA モデルの開発は病初期におこる現象を捉える上で重要であると思われる。その意味で、本家兎 ACL 部分損傷モデルは、初期 OA モデルとしての価値があり、今後初期 OA に対する治療法開発などに使用できるのではないかと考える。

第五章

結論

異なる解剖と機能を有する ACL の 2 つの線維束を AM 束と PL 束に分けて検討する事により、ヒト一次性膝 OA においては靱帯変性の程度が異なっていることが分かり、また家兎を用いての ACL 部分損傷モデルにおいては、AM 損傷は PL 損傷より早い時期から二次性の OA 変化を示すという新たな知見が得られた。

表 1. 二次性膝 OA の原因

-
1. 外傷：軟骨面への直接損傷や関節面の不適合、靱帯損傷による関節不安定性に起因するもの（関節内骨折、半月板損傷、前十字靱帯損傷など）
 2. 炎症性疾患：炎症による軟骨の破壊（化膿性関節炎など）
 3. 代謝性疾患：軟骨への結晶や代謝産物の蓄積による軟骨破壊（高尿酸血症、偽痛風など）
 4. 関節血症：多数回出血による軟骨破壊（血友病性関節症）
 5. 関節外の変形（骨折後の変形治癒など）
 6. 神経原性：固有感覚の消失による関節への過負担、不安定性による関節破壊（糖尿病、脊髄空洞症、シャルコー関節など）
 7. 医原性：長期間の関節固定による軟骨代謝障害（ギプス固定によるものなど）
-

表 2. 靱帯の組織学的変性の評価

Normal	変性所見を認めない
Slight	400倍の視野において変性所見を認める
Mild	数視野において変性所見を認める
Moderate	靱帯の主要部分に変性所見を認める
Marked	靱帯が変性所見で占められている

表 3. Kellgren-Lawrence 分類

Grade 0 : 骨棘なし
1 : 微小な骨棘形成が疑われる。
2 : 微小な骨棘形成あり。関節列隙狭小（25%以下）を認める
3 : 関節列隙狭小（50 から 75%）と骨棘形成、骨硬化像
4 : 骨変化が著しく、関節列隙狭小（75%以上）を伴う

表 4. AM と PL の各々の組織学的評価

	AM (n=49)	PL (n=49)
Normal	6	2
Slight	0	0
Mild	17	9
Moderate	12	20
Marked	14	18

表 5. AM の軽度変性群・高度変性群における臨床データとの比較

Clinical Factors	軽度変性群 (AM)	高度変性群 (AM)	<i>p</i> 値
年齢	72±6	72±6	0.96
FTA	185±3	187±4	0.18
K-L grade			
3	6	4	
4	17	22	0.36

軽度変性群 = Normal / Slight / Mild. 高度変性群 = Moderate / Marked.

表 6. PL の軽度変性群・高度変性群における臨床データとの比較

Clinical Factors	軽度変性群 (PL)	高度変性群 (PL)	<i>p</i> 値
年齢	72±7	72±6	0.96
FTA	185±3	187±4	0.51
K-L grade			
3	3	7	
4	8	31	0.53

軽度変性群 = Normal / Slight / Mild. 高度変性群 = Moderate / Marked.

表 7. 滑膜の組織学的スコアリング

I. Synovial Lining Layer

1. Hyperplasia of synovial lining cells	
Normal	0
Slight	1
Moderate	2
Severe	3
2. Hypertrophy of synovial lining cells	
Normal	0
Slight	1
Moderate	2
Severe	3
3. Infiltration of inflammatory cells	
Normal	0
Slight	1
Moderate	2
Severe	3

II. Subsynovial Tissue

1. Proliferation of granulation tissue	
Normal	0
Slight	1
Moderate	2
Severe	3
2. Vascularization	
Normal	0
Slight	1
Moderate	2
Severe	3
3. Infiltration of inflammatory cells	
Normal	0
Slight	1
Moderate	2
Severe	3

表 8. 軟骨の組織学的スコアリング

<u>Structure</u>		<u>Cell</u>	
Normal	0	<u>Tangential zone</u>	
Slight surface irregularities	1	Normal	0
Moderate surface irregularities	2	Swelling of cells	1
Severe surface irregularities	3	Disappearance of cells	2
Cleft in transitional zone	4	<u>Transitional and Radial zone</u>	
Cleft in radial zone	5	Normal	0
Cleft in calcified zone	6	Slight hypercellularity	1
Loss of transitional zone	7	Moderate hypercellularity	2
Loss of radial zone	8	Severe hypercellularity	3
Loss of calcified zone	9	Slight cloning	4
Complete disorganization	10	Moderate cloning	5
<u>Safranin O staining</u>		Severe cloning	6
Normal	0	Slight hypocellularity	7
Slight reduction	1	Moderate hypocellularity	8
Moderate reduction	2	Severe hypocellularity	9
Severe reduction	3	Disappearance of cells	10
No dye noted	4	<u>Pannus Formation</u>	
<u>Tidemark</u>		None	0
Intact	0	Slight	1
Multilayerd	1	Moderate	2
Indistinct	2	Marked	3
Crossed by blood vessels	3		

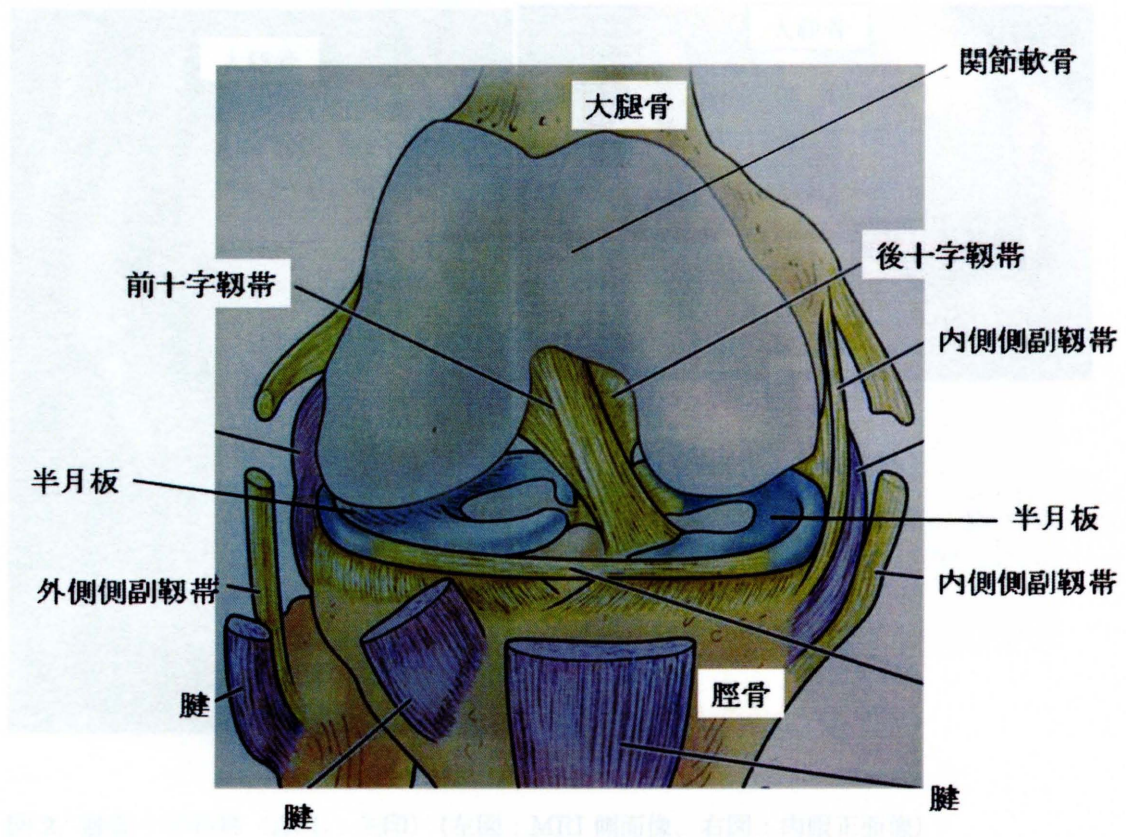


図 1. 膝関節（右膝）

(Surgery of the Knee, 4th edition. Elsevier, 2006, p32 より出典・引用)

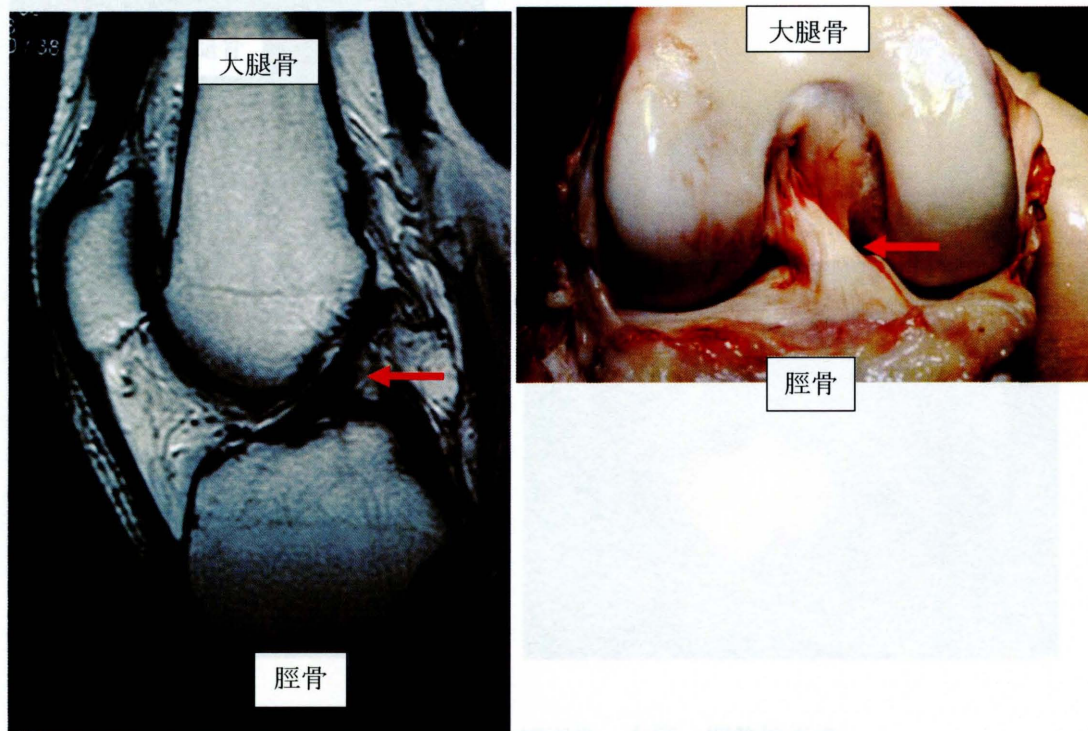


図 2. 膝前十字靱帯（ACL：矢印）（左図：MRI 側面像、右図：肉眼正面像）

膝前十字靱帯は大腿骨と脛骨の間に存在し、大腿骨に対する脛骨の前方制動に重要な役割を果たしている

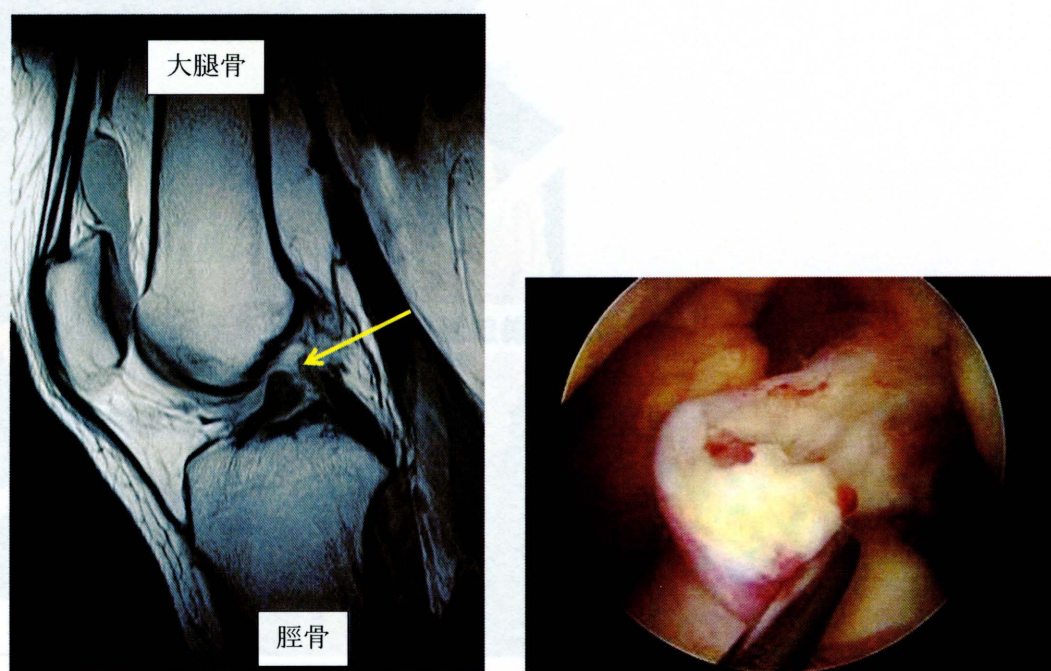


図 3. 断裂した ACL (矢印) (左図：MRI 側面像、右図：関節鏡視像)

MRI にて ACL は連続性が失われ断裂を示しており、また関節鏡視像でも同様に断裂した ACL が認められる

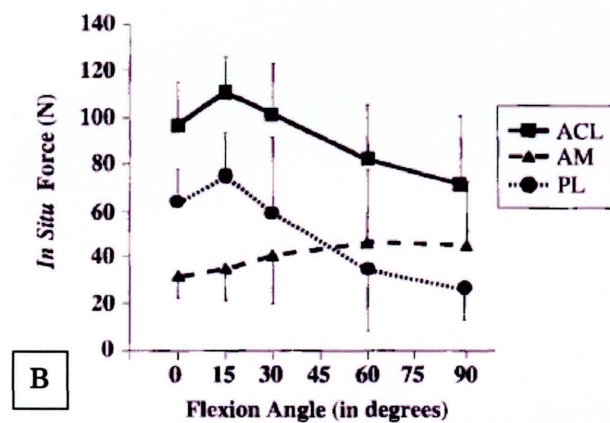
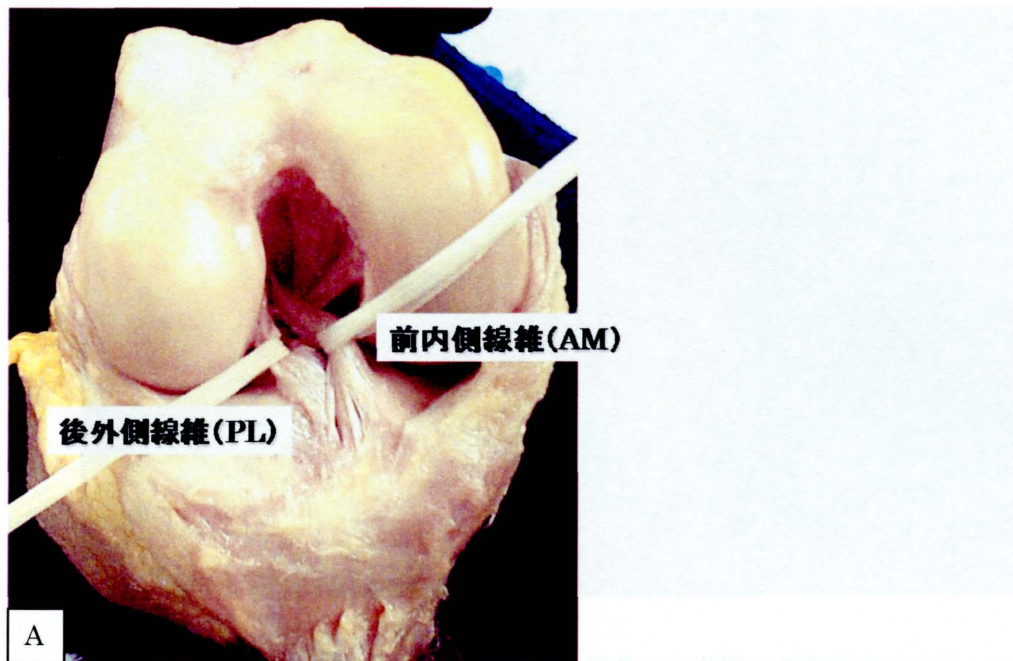


図 4A. 膝前十字靱帯 (ACL) の各線維束 (右膝)

膝前十字靱帯は、前内側線維 (AM) と後外側線維 (PL) の 2 つの線維束からなる

図 4B. 前方力を加えた際の ACL および AM、PL 各線維束に生じた張力

(文献 54 より出典・引用)

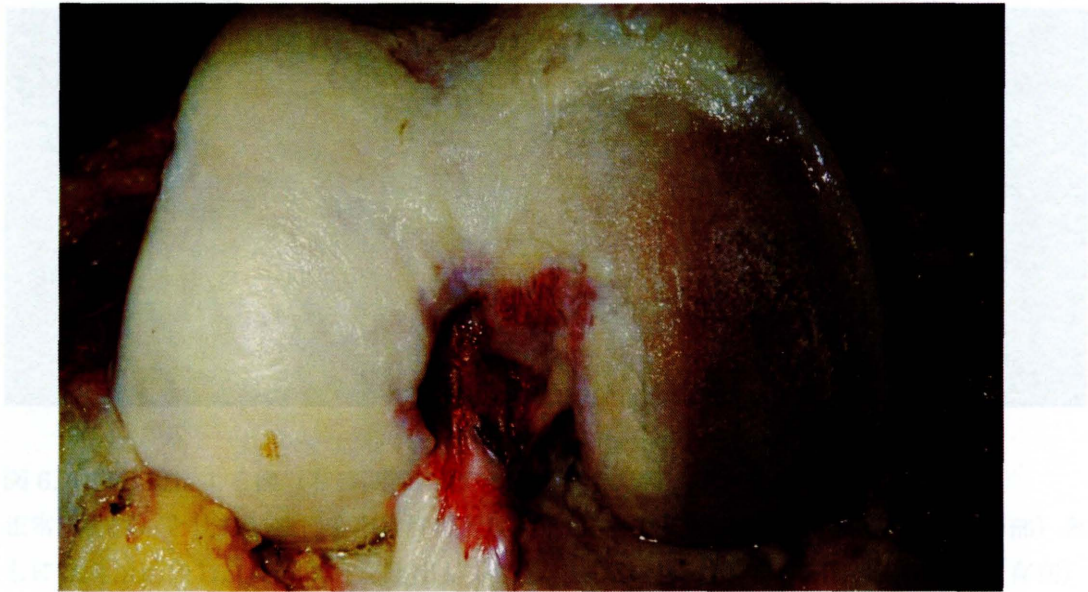


図 5. 変形性膝関節症（右膝正面像）：大腿骨の内側顆の関節軟骨が消失している

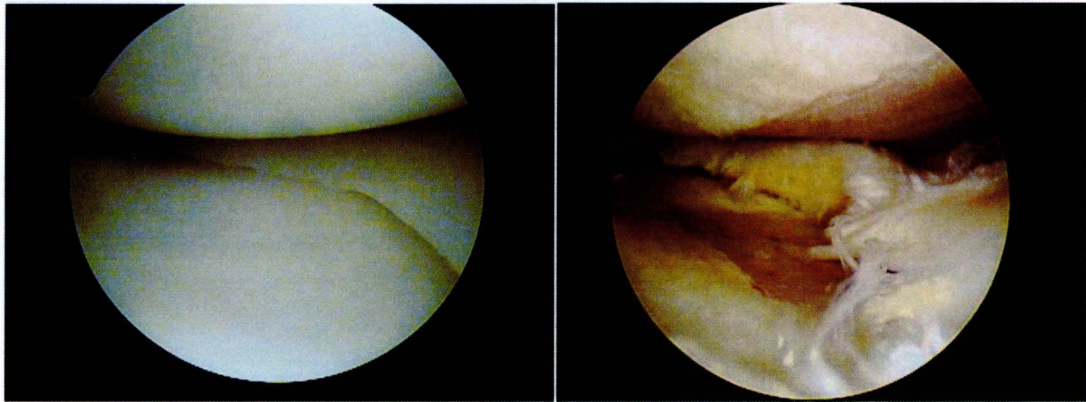


図 6. 関節鏡による像（右膝関節内部を鏡視）

正常（左図）と比較して、変形性膝関節症（右図）では、大腿骨（上部）・脛骨（下部）ともに軟骨が消失し、軟骨下骨が露出している。また、半月板（大腿骨と脛骨の間に存在）も変性している

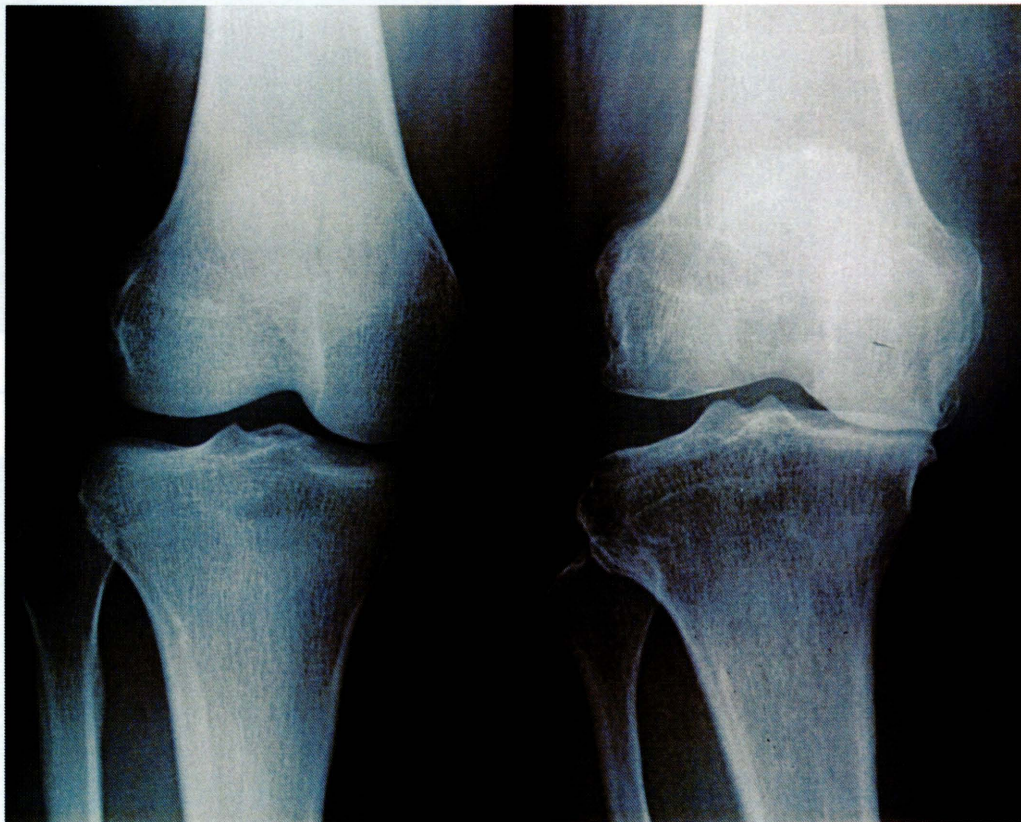


図 7. X線像（右膝関節；正面像）

正常（左図）に比べて、変形性膝関節症（右図）では内側関節裂隙が消失し、また、大腿骨・脛骨内側には骨棘の形成が見られる。

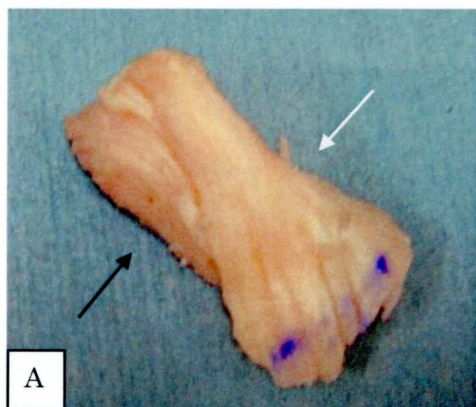


図 8. 変形性膝関節症（右膝）より採取した ACL

A : 分離前（白矢印 : AM、黒矢印 : PL）

B : 分離後（右 : AM、左 : PL）

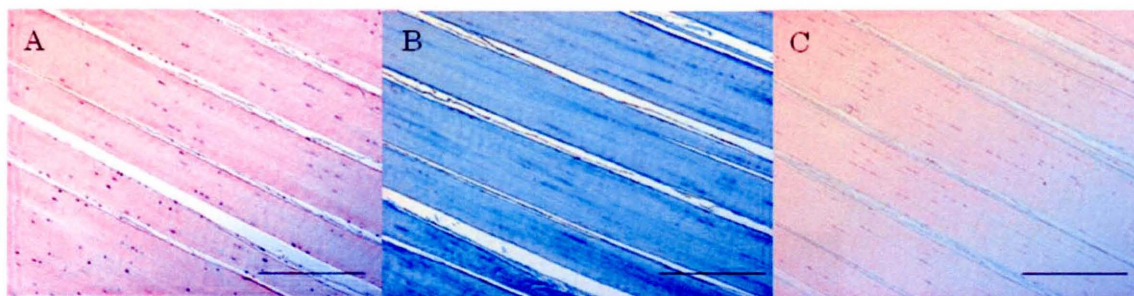


図 9. ACL の正常組織像

A : HE 染色 B ; Masson's trichrome 染色 C : Alcian Blue 染色

Scale bar: 500 μ m

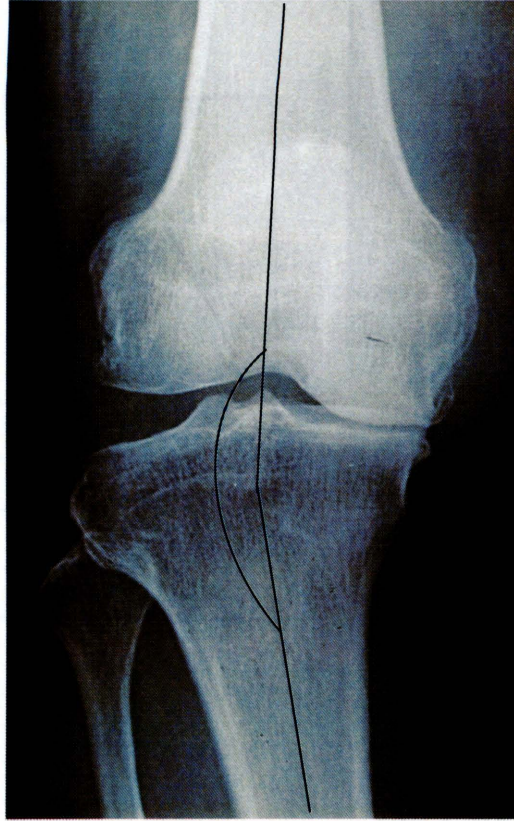


図 10. 大腿骨と脛骨の解剖軸のなす角度：膝外側角 Femoro-Tibial Angle (FTA)

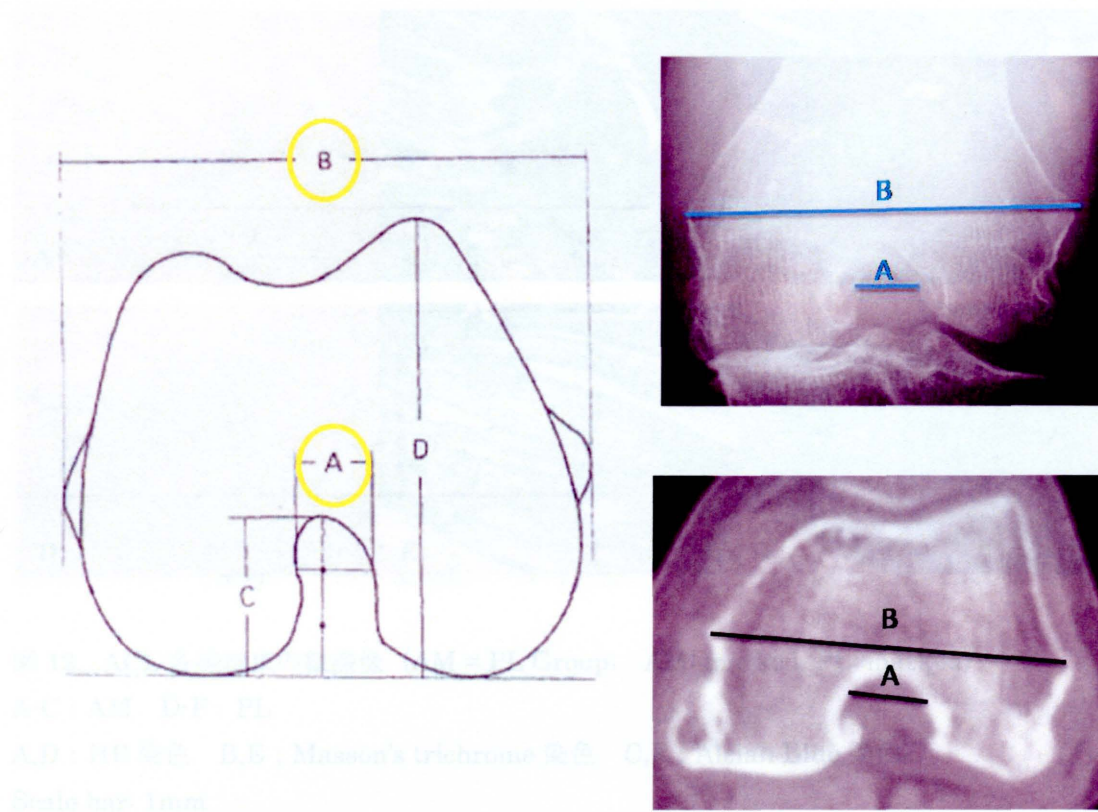


図 11. Notch Width Index (NWI) の測定方法 (文献 73 より出典・引用)

NWI : A/B

右図上 ; X線 右図下 ; CT

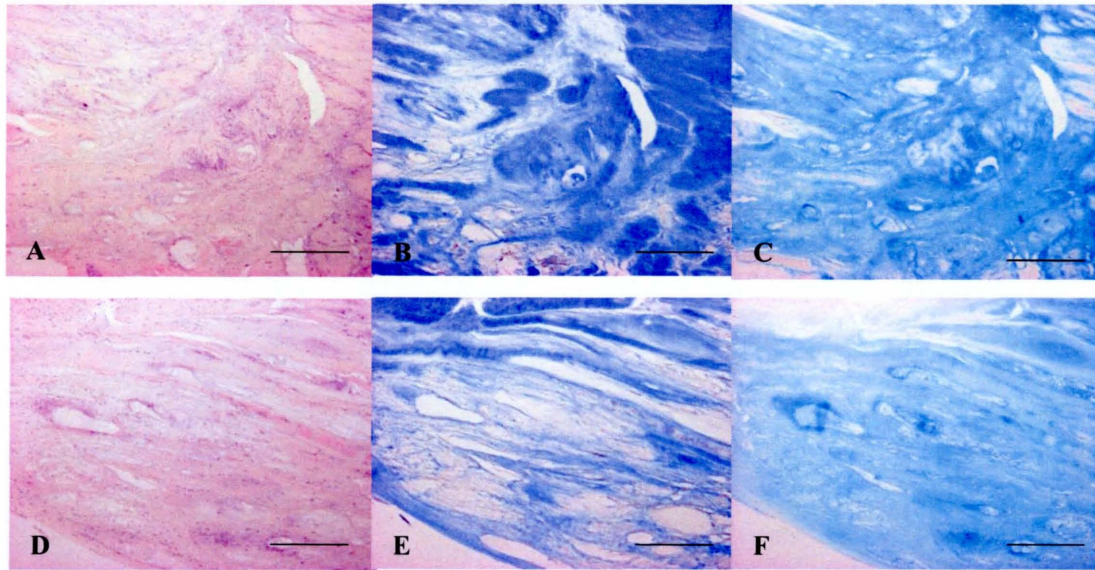


図 12. ACL 各線維束の組織像 (AM = PL Group; AM: marked, PL: marked)

A-C : AM D-F : PL

A,D : HE 染色 B,E ; Masson's trichrome 染色 C,F : Alcian Blue 染色

Scale bar: 1mm

AM、PL ともにコラーゲン線維の走行が乱れており、また嚢胞性変化を伴っている。
Alcian blue 染色にて著明に染色されており、ムコイド変性を来している。

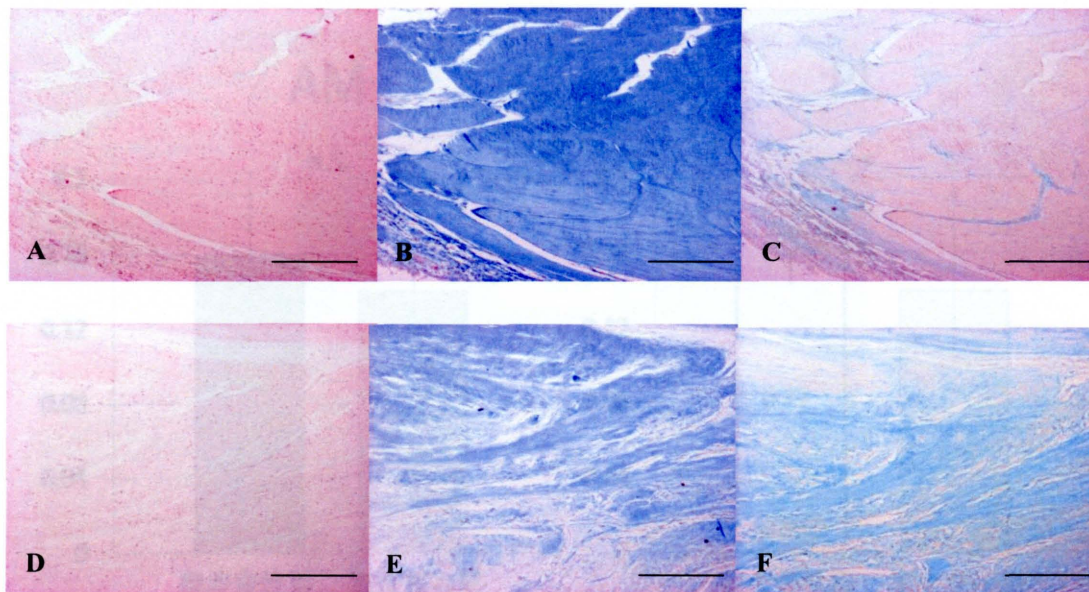


図 13. ACL 各線維束の組織像 (AM<PL Group; AM: mild, PL: marked)

A-C : AM D-F : PL

A,D : HE 染色 B,E ; Masson's trichrome 染色 C,F : Alcian Blue 染色

Scale bar: 1mm

AM は、コラーゲン線維の走行が一部乱れているが、ムコイド変性は来していない。

PL は靱帯の走行が乱れており、また著明なムコイド変性を来している。

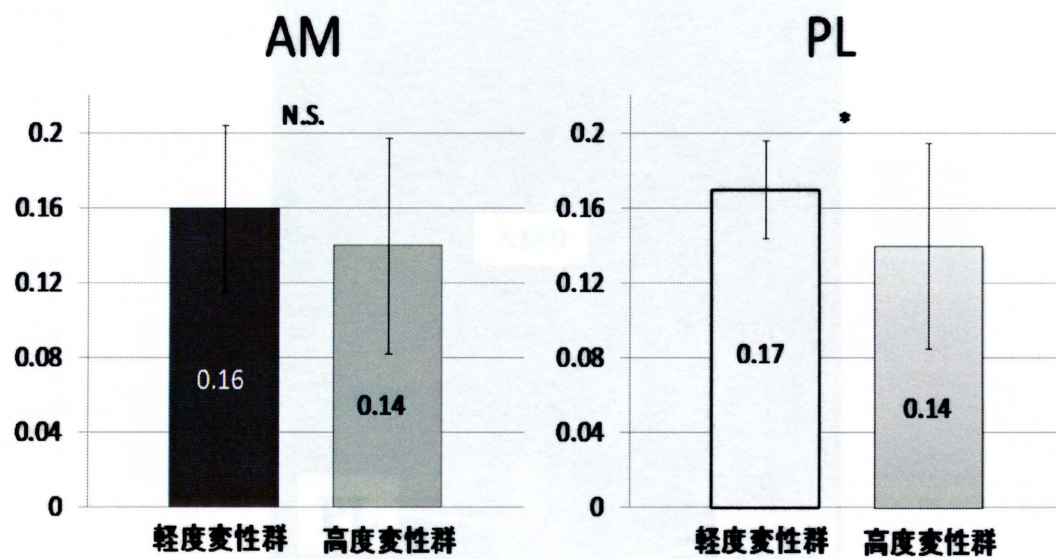


図 14. AM と PL の各々軽度変性群・高度変性群の NWI の値

AM では有意差を認めなかったが、 PL においては軽度変性群・高度変性群間で有意差を認めた。

N.S.: 統計学的有意差なし

*: $p < 0.05$

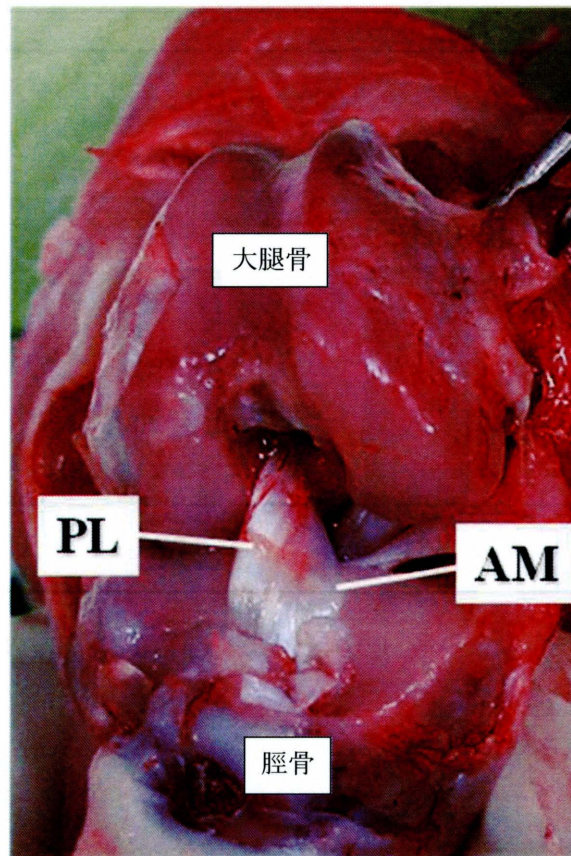


図 15. 家兎右膝関節 : AM と PL の 2 つの線維束

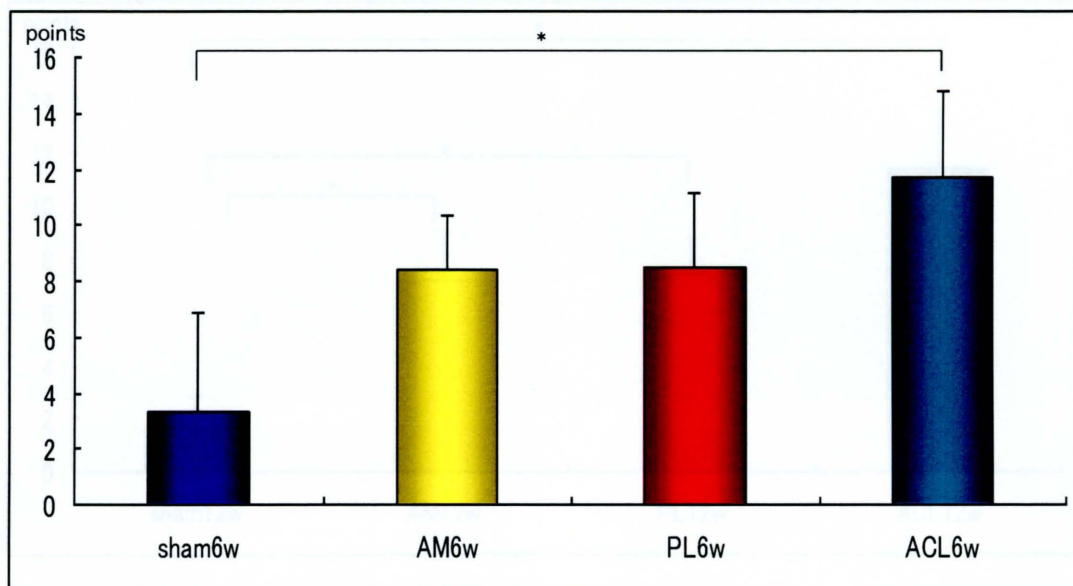


図 16. 滑膜組織スコアの結果 (6 週) *: $p < 0.05$

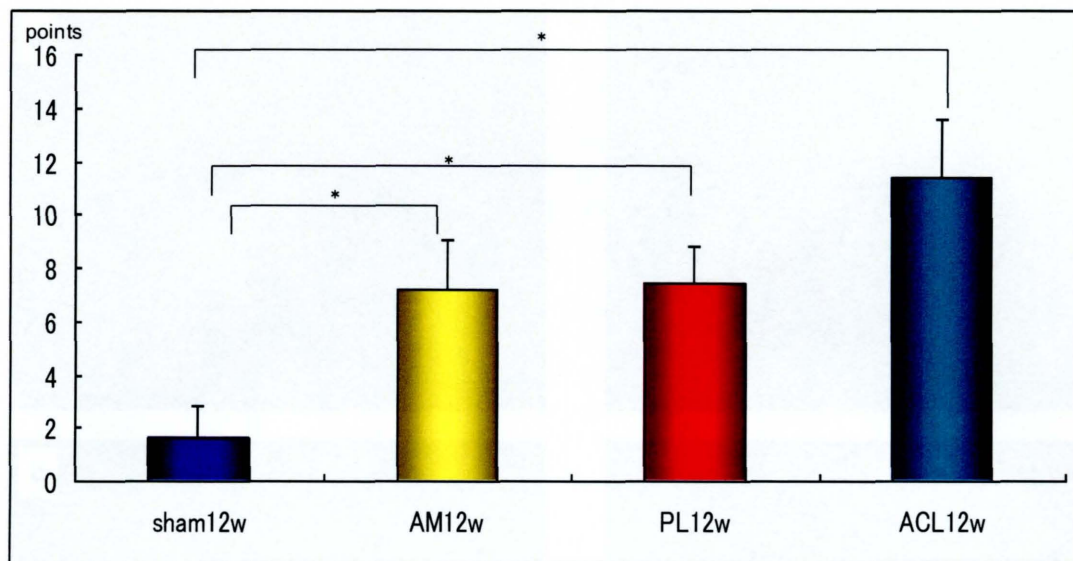


図 17. 滑膜組織スコアの結果 (12 週) *: $p < 0.05$

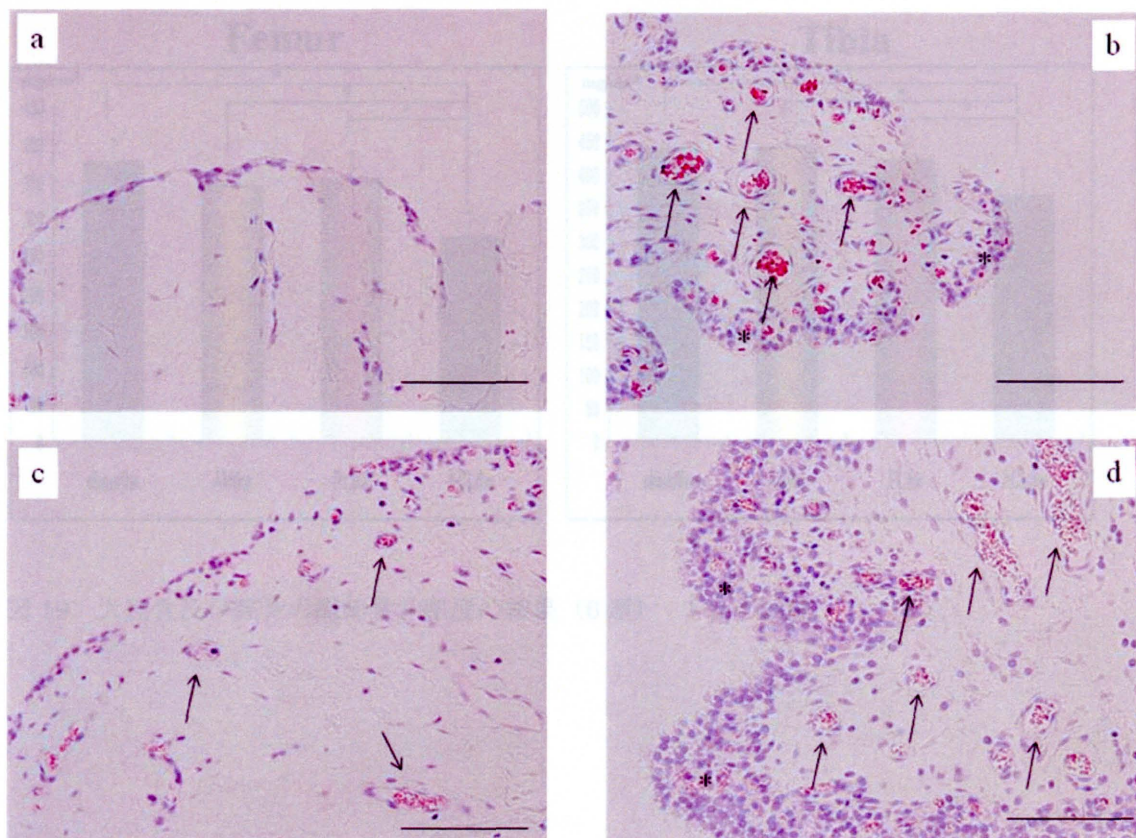


図 18. 滑膜組織像 12 週 (HE 染色)
a : sham b : AM c : PL d : ACL
Scale bar : 100 μ m

sham 群と比較して、その他 3 群では、滑膜下組織への血管新生 (矢印) を認める。また AM と ACL においては、滑膜表層細胞の過形成と炎症細胞の浸潤 (*) が見られる。

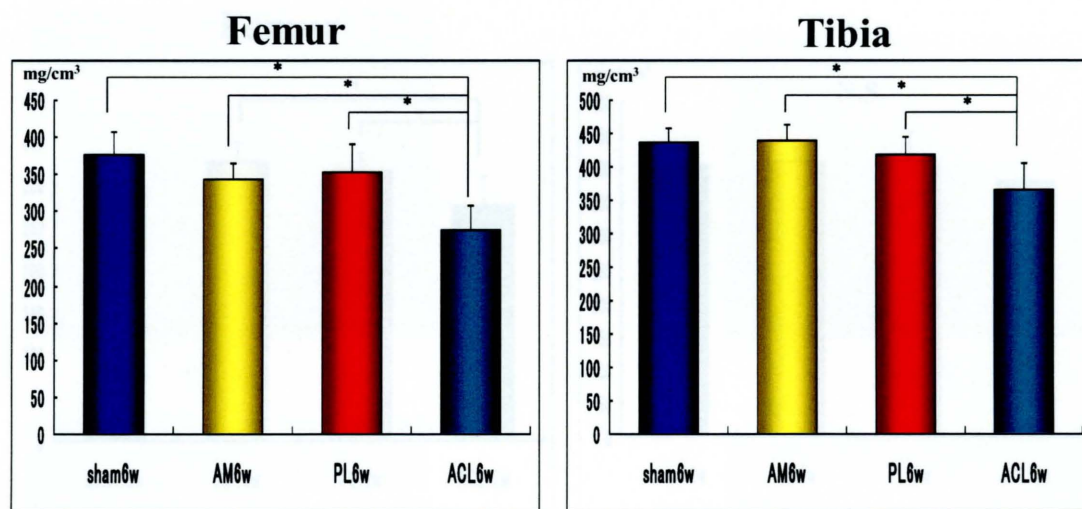


図 19. 大腿骨及び脛骨の海綿骨骨密度の結果（6 週） *: $p < 0.05$

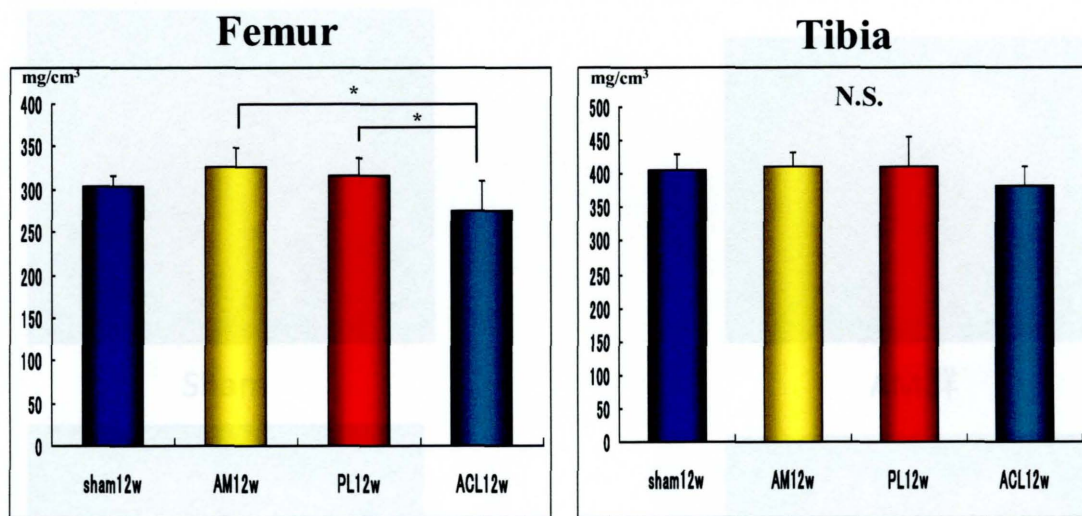


図 20. 大腿骨及び脛骨の海綿骨骨密度の結果 (12 週)

N.S.: 統計学的有意差なし *: $p < 0.05$

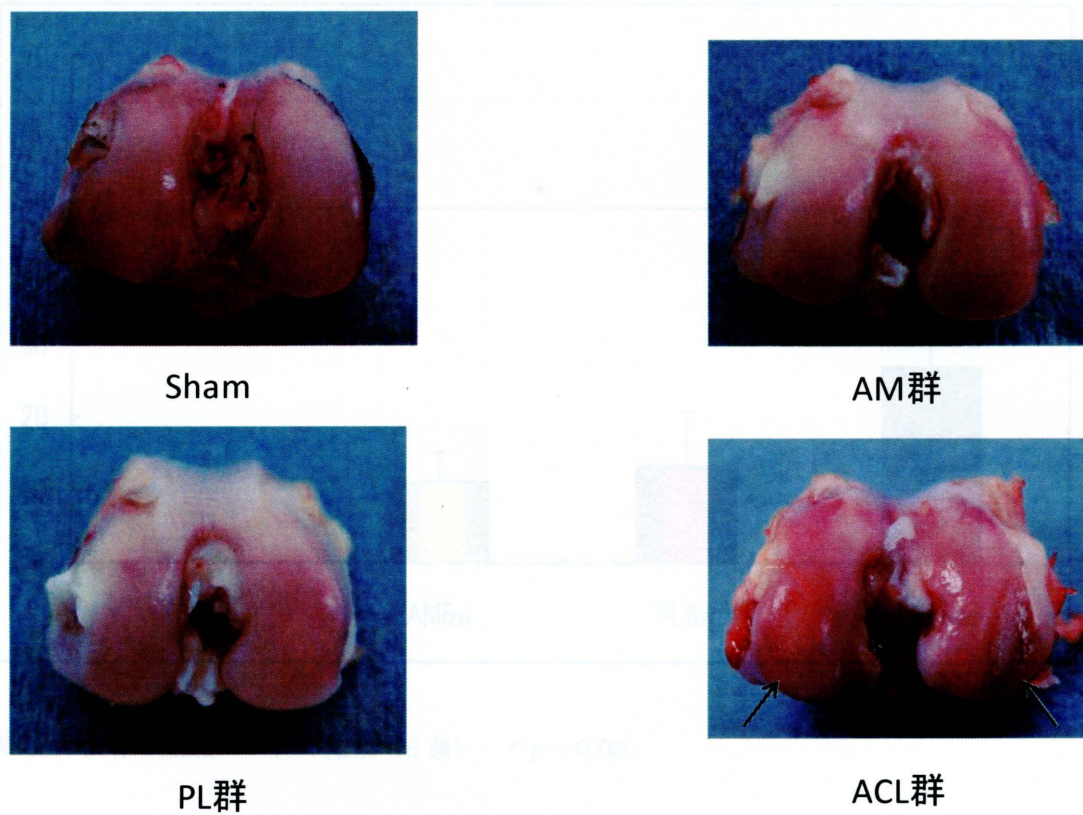


図 21. 家兎大腿骨の肉眼所見像
Sham 群、AM 群、PL 群と比較し、ACL 群では内・外側ともに軟骨面の変性・消失像を認める

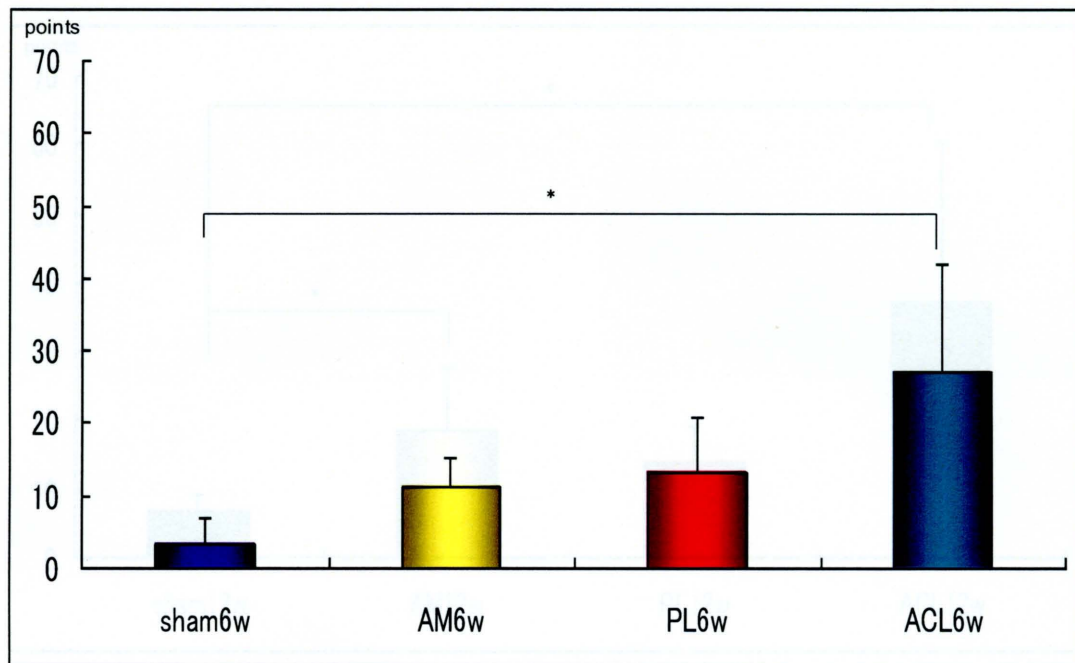


図 22. 軟骨の組織スコアの結果 (6 週) *: $p < 0.05$

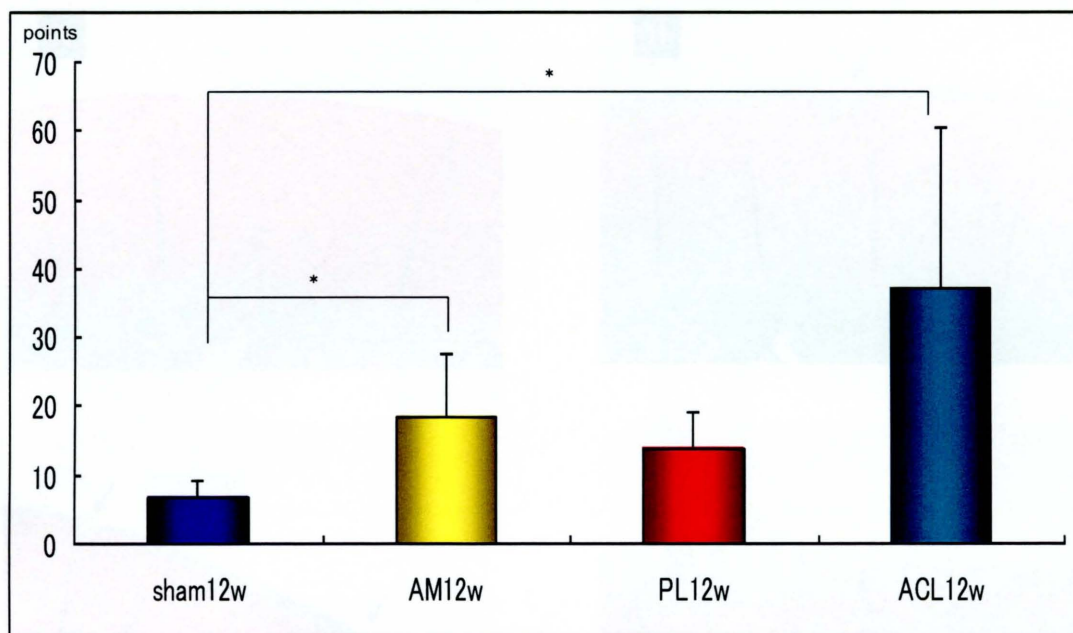


図 23. 軟骨の組織スコアの結果 (12 週) *: $p < 0.05$

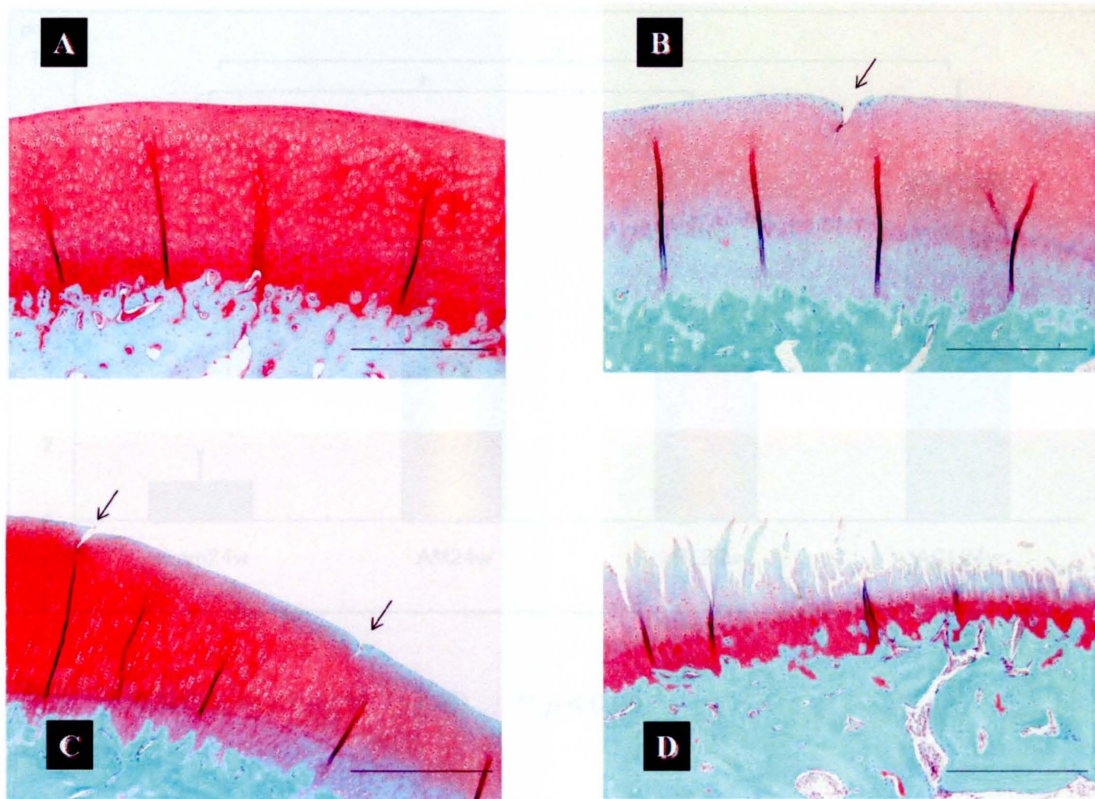


図 24. 軟骨組織像 12 週 (サフラニン O 染色)

A : sham B : AM C : PL D : ACL

Scale bar : 500 μ m

AM 群では、赤色で染色されるサフラニン O の染色性が低下し、表層に亀裂（矢印）が見られる。PL 群では、サフラニン O の染色性は保たれているが、表層に複数の亀裂（矢印）が認められる。ACL 群では、サフラニン O の染色性の低下と、軟骨層の部分欠損・消失が見られる

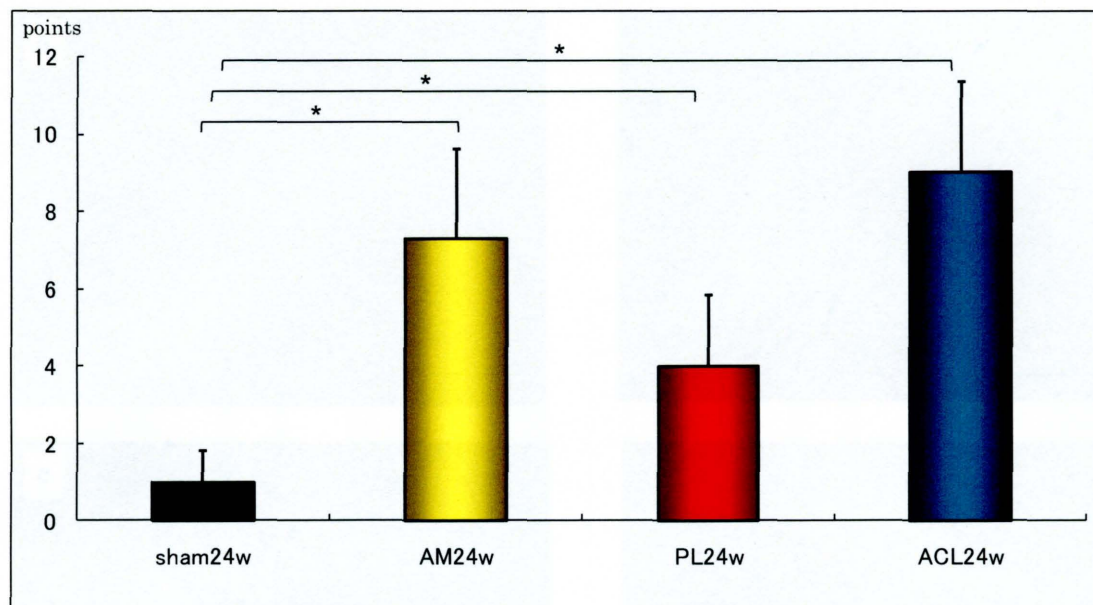


図 25. 滑膜組織スコアの結果 (24 週) *: $p < 0.05$

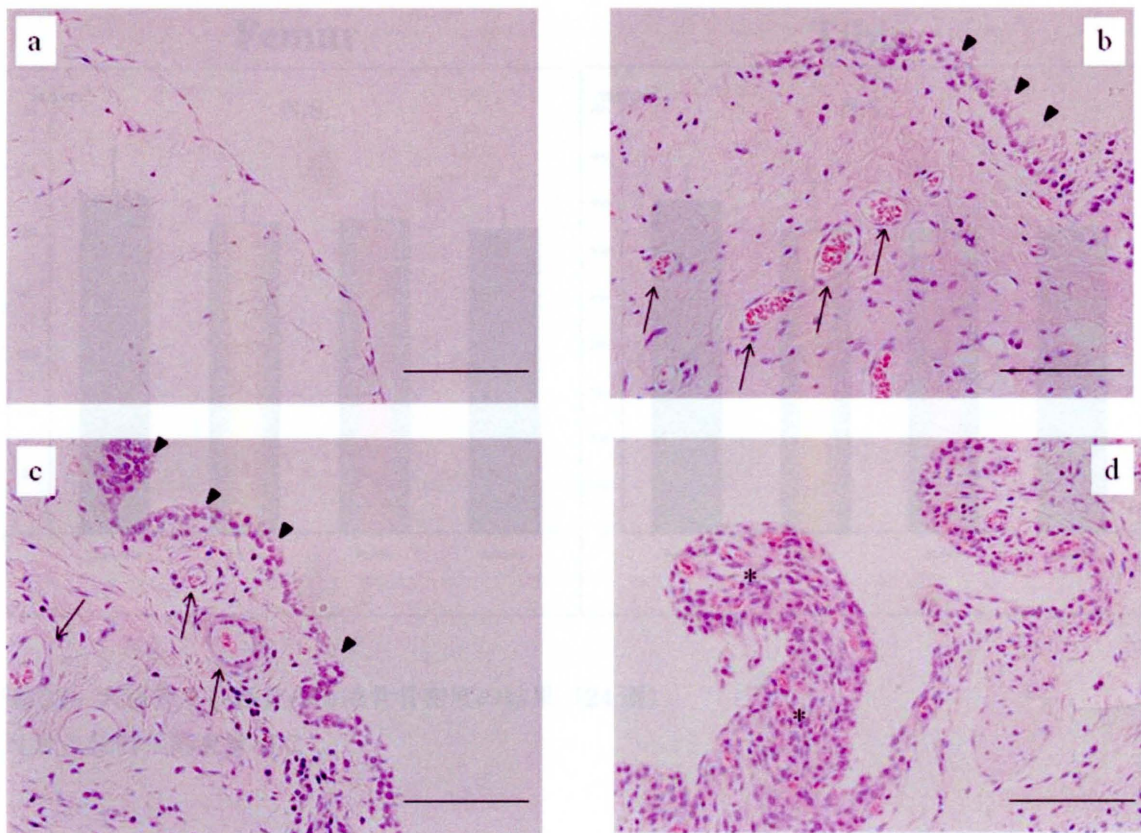


図 26. 滑膜組織像 24 週 (HE 染色)

a : sham b : AM c : PL d : ACL

Scale bar : 100 μ m

sham 群と比較して、AM および PL 群では、滑膜表層細胞の過形成（矢頭）を認め、また血管新生（矢印）も認める。ACL 群では滑膜表層細胞の過形成に加え、さらに炎症細胞浸潤（*）が見られる。

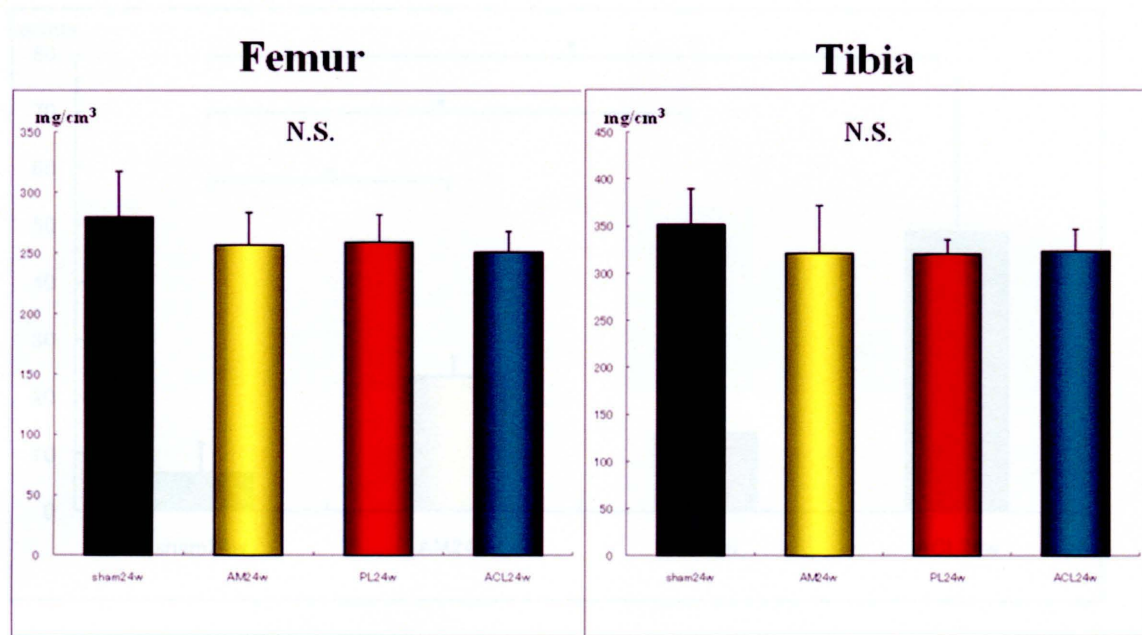


図 27. 大腿骨及び脛骨の海綿骨骨密度の結果 (24 週)

N.S.: 統計学的有意差なし

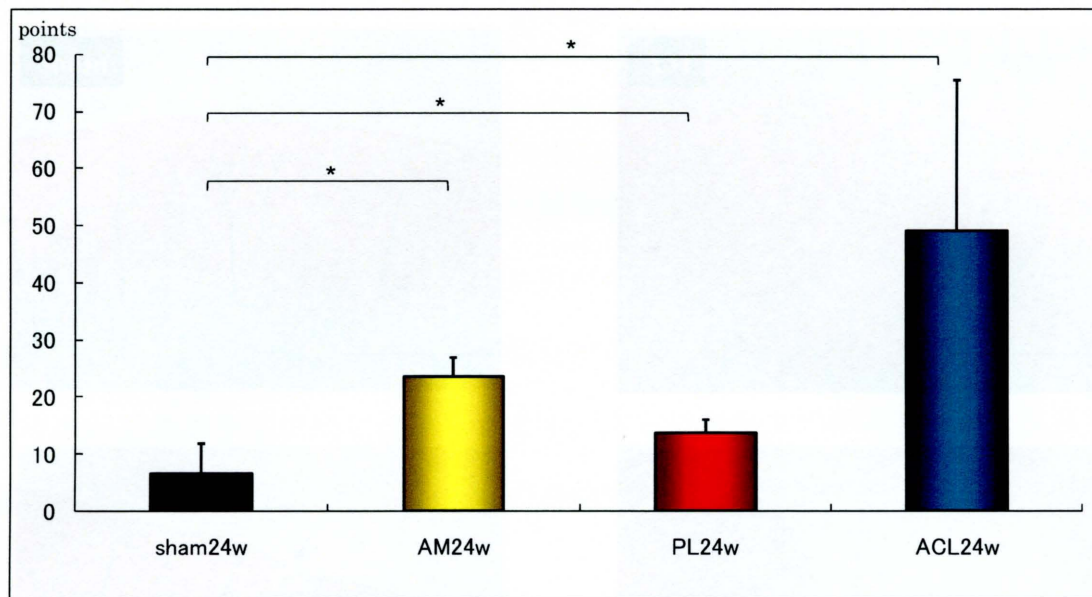


図 28. 軟骨の組織スコアの結果 (24 週) *: $p < 0.05$

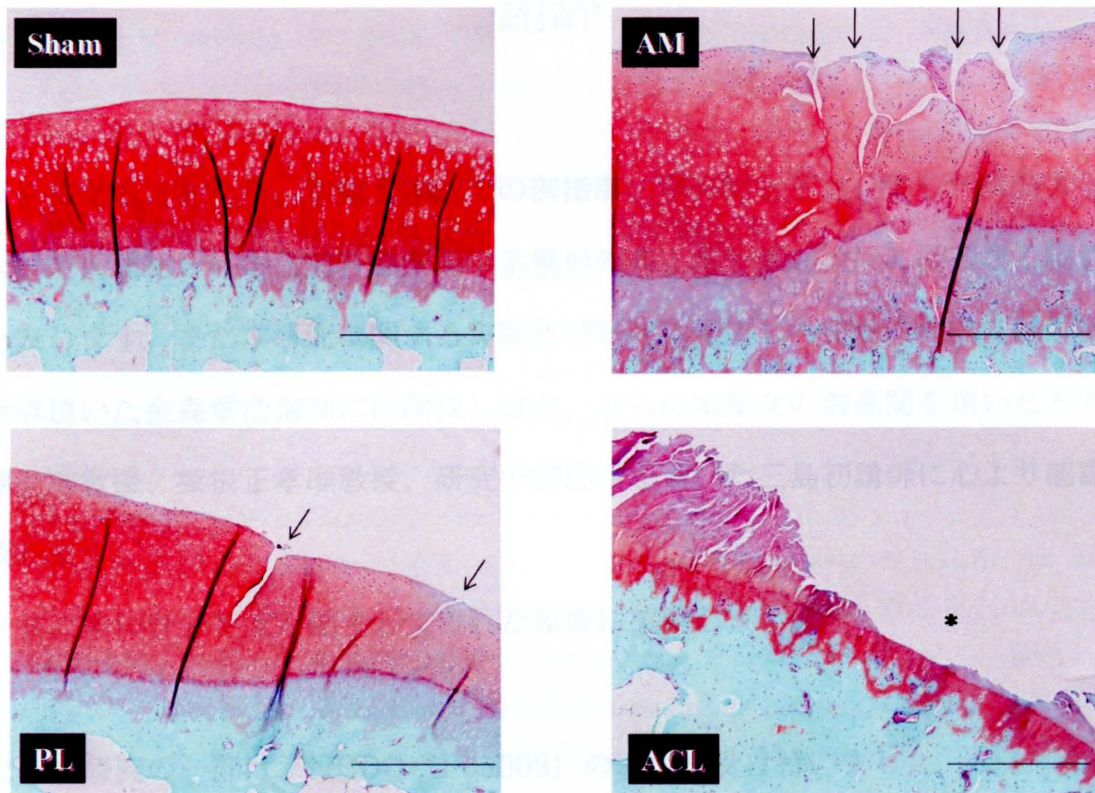


図 29. 軟骨組織像 24 週（サフラニン O 染色）

A : sham B : AM C : PL D : ACL

Scale bar : 500 μ m

AM 群では、深層に至る複数の亀裂（矢印）を認める。PL 群では、サフラニン O の染色性は保たれているが、表層の不整、中間層に至る亀裂（矢印）が認められる。ACL 群では、軟骨層はほぼ欠損・消失（*）している。

謝辞

稿を終えるにあたり、本論文作成での御指導、御高閲を下さいました筑波大学大学院人間総合科学研究科臨床医学系整形外科 落合直之教授に深甚なる謝意を表します。また本研究に関する実験及び研究に関連した発表に際して誠意御指導頂いた金森章浩講師に深謝致します。さらに本論文の御高閲を頂いた石井朝夫准教授、坂根正孝准教授、研究の御助言を頂いた三島初講師に心より感謝致します。

最後に常に自分を支え励ましてくれた家族に感謝します。

なお本研究の一部は、NEDO（P05003）の助成を受け行いました。

引用文献

1. Akisue T, Stulberg BN, Bauer TW, et al. Histologic evaluation of posterior cruciate ligaments from osteoarthritic knees. *Clin Orthop* 2002; 400: 165-73.
2. Alexiades M, Scuderi G, Vigorita V, et al. A histologic study of the posterior cruciate ligament in the arthritic knee. *Am J Knee Surg* 1989; 2: 153-159.
3. Allain J, Goutallier D, Voisin MC. Macroscopic and histological assessments of the cruciate ligaments in arthrosis of the knee. *Acta Orthop Scand* 2001; 72: 266-9.
4. Barrack RL, Buckley SL, Bruckner JD, et al. Partial versus complete acute anterior cruciate ligament tears. *J Bone Joint Surg* 1990; 72B: 622-624.
5. Batiste DL, Kirkley A, Laverty S, et al. Ex vivo characterization of articular cartilage and bone lesions in a rabbit ACL transection model of osteoarthritis using MRI and micro-CT. *Osteoarthritis and Cartilage* 2004; 12: 986-996.
6. Boyd SK, Matyas JR, Wohl GR, et al. Early regional adaptation of periarticular bone mineral density after anterior cruciate ligament injury. *J Appl Physiol* 2000; 89: 2359-2364.
7. Boyd SK, Muller R, Matyas JR, et al. Early morphometric and anisotropic changes in periarticular cancellous bone in a model of experimental knee osteoarthritis quantified using microcomputed tomography. *Clin Biomechanics* 2000; 15: 624-631.
8. Chang DG, Iverson EP, Schinagl RM, et al. Quantitation and localization of cartilage degeneration following the induction of osteoarthritis in the rabbit knee. *Osteoarthritis and Cartilage* 1997; 5: 357-372.
9. Cushner FD, La Rosa DF, Vigorita VJ, et al. A quantitative histologic comparison: ACL degeneration in the osteoarthritic knee. *J Arthroplasty* 2003; 18: 687-92.
10. Dede O, Maheedhara SL, Kilger RH, et al. Differences in the structural properties of the anteromedial and posterolateral bundles of the human anterior cruciate ligament. 6th Biennial ISAKOS 2007; e-poster180.
11. DeFranco MJ, Bach BR. A comprehensive review of partial anterior cruciate ligament tears. *J Bone Joint Surg Am* 2009; 91: 198-208.
12. Duthon VB, Barea C, Abrassart S, et al. Anatomy of the anterior cruciate ligament. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2006; 14: 204-13.
13. Farquharson-Roberts MA, Osborne AH. Partial rupture of the anterior cruciate ligament of the knee. *J Bone Joint Surg* 1983; 65B: 32-34.
14. Gaberiel MT, Wong EK, Woo SL-Y, et al. Distribution of in situ forces in the anterior cruciate ligament in response to rotatory loads. *J Orthop Res* 2004; 22: 85-89.
15. Girgis FG, Marshall JL, Al Monajem ARS. The Cruciate ligaments of the knee joint. *Clin Orthop* 1975; 106: 216-231.
16. Hamanishi C, Hashima M, Satsuma H, et al. Protein kinase C activator inhibits progression

- of osteoarthritis induced in rabbit knee joints. *J Lab Clin Med* 1996; 127: 540-544.
17. Hashimoto S, Takahashi K, Amiel D, et al. Chondrocyte apoptosis and nitric oxide production during experimentally induced osteoarthritis. *Arthritis and Rheumatism* 1998; 41: 1266-1274.
 18. Hayami T, Pickarski M, Wesolowski GA, et al. The role of subchondral bone remodeling in osteoarthritis. *Arthritis and Rheumatism* 2004; 50: 1193-1206.
 19. Hayami T, Pickarski M, Zhuo Y, et al. Characterization of articular cartilage and subchondral bone changes in the rat anterior cruciate ligament transection and meniscectomized models of osteoarthritis. *Bone* 2006; 38: 234-243.
 20. Hefti FL, Kress A, Fasel J, et al. Healing of the transected anterior cruciate ligament in the rabbit. *J Bone Joint Surg* 1991; 73A: 373-383.
 21. Heiner AD, Rudert MJ, McKinley TO, et al. In vivo measurement of translational stiffness of rabbit knees. *J Biomech* 2007; 40: 2313-2317.
 22. Hernigou P, Garabedian JM. Intercondylar notch width and the risk for anterior cruciate ligament rupture in the osteoarthritic knee: evaluation by plain radiography and CT scan. *Knee* 2002; 9: 313-6.
 23. Hill CL, Seo GS, Gale D, et al. Cruciate ligament integrity in osteoarthritis of the knee. *Arthritis and Rheumatism* 2005; 52: 794-799.
 24. 星 忠行, 原田 征行, 岡村 良久, 他. 家兔前十字靭帯切断膝における早期変形性関節症のMRI像の検討. *日関外誌* 1997; 16: 167-170.
 25. Hsu CJ, Wang SC, Fong YC, et al. Muroid degeneration of the anterior cruciate ligament. *J Chin Med Assoc* 2006; 69: 449-452.
 26. Hulth A, Lindberg L, Telhag H, et al. Experimental osteoarthritis in rabbits. *Acta Orthop Scand* 1970; 41: 522-530.
 27. Indelicato PA, Bittar ES. A perspective of lesions associated with ACL insufficiency of the knee. *Clin Orthop* 1985; 198: 77-80.
 28. Iwahashi T, Shino K, Nakata K, et al. Assessment of the "functional length" of the three bundles of the anterior cruciate ligament. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2008; 16: 167-74.
 29. Kellgren JH, Lawrence JS. Radiological assessment of osteo-arthritis. *Ann Rheum Dis* 1957; 16: 494-502.
 30. Kim TH, Lee DH, Lee SH, et al. Arthroscopic Treatment of Muroid Hypertrophy of the Anterior Cruciate Ligament. *Arthroscopy* 2008; 24: 642-649.
 31. Kleinbart FA, Bryk E, Evangelista J, et al. Histologic comparison of posterior cruciate ligaments from arthritic and age-matched knee specimens. *J Arthroplasty* 1996; 11: 726-31.
 32. Lee GC, Cushner FD, Vigoritta V, et al. Evaluation of the anterior cruciate ligament

- integrity and degenerative arthritic patterns in patients undergoing total knee arthroplasty. *J Arthroplasty* 2005; 20: 59-65.
33. Leon HO, Blanco CE, Guthrie TB, et al. Intercondylar notch stenosis in degenerative arthritis of the knee. *Arthroscopy* 2005; 21: 294-302.
 34. Li G, DeFrate LE, Sun H, et al. In vivo elongation of the anterior cruciate ligament and posterior cruciate ligament during knee flexion. *Am J Sports Med* 2004; 32: 1415-20.
 35. Mankin HJ, Dorfman H, Lippiello L, et al. Biomechanical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteo-arthritic human hips. *JBJS* 1971; 53A: 523-537.
 36. Marmor L. Anterior cruciate destruction in osteoarthritis. *Contemp Orthop* 1980; 2:590-591.
 37. 真柴 賛. 変形性関節症における骨代謝異常のかかわり. 別冊整形外科 2008; 53: 10-13.
 38. Melloni P, Valls R, Yuguero M, et al. Mucoïd degeneration of the anterior cruciate ligament with erosion of the lateral femoral condyle. *Skeletal Radiol* 2004; 33: 359-362.
 39. Messner K, Fahlgren A, Ross I, et al. Simultaneous changes in bone mineral density and articular cartilage in a rabbit meniscectomy model of knee osteoarthrosis. *Osteoarthritis and Cartilage* 2000; 8: 197-206.
 40. 三浦裕正, 高杉紳一郎, 岩本幸英, 他. 変形性膝関節症の疫学. 骨・関節・靱帯 2000; 13 : 303-310.
 41. Mullaji AB, Marawar SV, Simha M, et al. Cruciate ligaments in arthritic knees: a histologic study with radiologic correlation. *J Arthroplasty* 2008; 23: 567-572.
 42. Muneta T, Sekiya I, Yagishita K, et al. Two-bundle reconstruction of the anterior cruciate ligament using semitendinosus tendon with endobuttons: operative technique and preliminary results. *Arthroscopy* 1999; 15: 618-624.
 43. 中村恒一, 秋月 章, 瀧澤 勉, 他. 膝関節症での骨棘顆間比計測による前十字靱帯存否の予測方法. 中部整災誌 2002; 45: 455-456.
 44. Nelissen RG, Hogendoorn PC. Retain or sacrifice the posterior cruciate ligament in total knee arthroplasty? A histopathological study of the cruciate ligament in osteoarthritic and rheumatoid disease. *J Clin Pathol* 2001; 54: 381-4.
 45. Noyes FR, Mooar LA, Moorman CT, et al. Partial tears of the anterior cruciate ligament. *J Bone Joint Surg* 1989; 71B: 825-833.
 46. Ochi M, Adachi N, Deie M, et al. Anterior cruciate ligament augmentation procedure with a 1-incision technique: anteromedial bundle or posterolateral bundle reconstruction. *Arthroscopy* 2006; 22: 463e1-463e5.
 47. Ochi M, Adachi N, Uchio Y, et al. A minimum 2-year follow-up after selective anteromedial or posterolateral bundle anterior cruciate ligament reconstruction.

- Arthroscopy 2009; 25: 117-122.
48. 大山直樹. 家兎膝前十字靱帯部分切断の修復過程における力学的及び組織学的研究. 北海道整災誌 1997; 40: 21-28.
 49. 大森 豪, 古賀良生. 変形性膝関節症の疫学. 臨床整形外科 2007; 42 : 7-14.
 50. Otsubo H, Shino K, Nakamura N, et al. Arthroscopic evaluation of ACL grafts reconstructed with the anatomical two-bundle technique using hamstring tendon autograft. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc 2007; 15: 720-728
 51. 大塚博徳, 原田征行, 岡村良久, 他. 家兎前十字靱帯切除による変形性膝関節症変化に対するヒアルロン酸ナトリウム注入効果. 東日本臨整会誌 1996; 8: 51-55
 52. Petersen W, Zantop T. Partial rupture of the anterior cruciate ligament. Arthroscopy 2006; 22: 1143-1145.
 53. Radin EL, Rose RM. Role of subchondral bone in the initiation and progression of cartilage damage. Clin Orthop 1986; 213: 34-40.
 54. Sakane M, Fox RJ, Woo SL-Y, et al. In situ forces in the anterior cruciate ligament and its bundles in response to anterior tibial loads. J Orthop Res 1997; 15: 285-93.
 55. Salvati F, Limbucci N, Pistoia ML, et al. Muroid metaplastic-degeneration of anterior cruciate ligament. J Sports Med Phys Fitness 2008; 48: 483-487
 56. Sandberg R, Balkfors B. Partial rupture of anterior cruciate ligament. Clin Orthop 1987; 220: 176-178.
 57. Segawa H, Omori G, Koga Y. Long-term results of non-operative treatment of anterior cruciate ligament injury. Knee 2001; 8: 5-11.
 58. Shimizu C, Coutts RD, Healey RM, et al. Method of histomorphometric assessment of glycosaminoglycans in articular cartilage. J Orthop Res 1997; 15: 670-674.
 59. Sniekers YH, Intema F, Lafeber F, et al. A role of subchondral bone changes in the process of osteoarthritis; a micro- CT study of two canine models. BMC Musculoskeletal Disorders 2008; 9:20.
 60. Sonnery-Cottet B, Barth J, Graveleau N, et al. Arthroscopic identification of isolated tear of the posterolateral bundle of the anterior cruciate ligament. Arthroscopy 2009; 25: 728-732.
 61. Sonnery-Cottet B, Lavoie F, Ogassawara R, et al. Selective anteromedial bundle reconstruction in partial ACL tears: a series of 36 patients with mean 24 months follow-up. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc 2009 (Epub ahead of print)
 62. Stein VC, Li L, Guermazi A, et al. The relation of femoral notch stenosis to ACL tears in persons with knee osteoarthritis. Osteoarthritis and Cartilage 2009; 17; S151.
 63. Stubbs G, Dahlstrom J, Papantoniou P, et al. Correlation between macroscopic changes of arthrosis and the posterior cruciate ligament histology in the osteoarthritic knee. ANZ J Surg 2005; 75: 1036-40.

64. 辰尾 洋, 和田 真, 井村 慎一, 他. 変形性膝関節症における顆間窩計測. 中部整災誌 1998; 41: 1481-1482
65. 辰尾 洋, 和田 真, 佐藤 充彦, 他. 変形性膝関節症における前十字靱帯の病理組織学的変化. 中部整災誌 2000; 43: 439-440.
66. Telhag H, Lindberg L. A method of inducing osteoarthritic changes in rabbits' knees. Clin Orthop 1972; 86: 214-223.
67. Tochigi Y, McKinley TO, Heiner AD, et al. A rabbit knee model of controlled instability. Osteoarthritis and Cartilage 2008; 16: S48-S49.
68. Tochigi Y, McKinley TO, Vaseenon T, et al. Degree of joint instability determines severity of cartilage degeneration in rabbit knees. 55th ORS 2009; poster 1115.
69. Tochigi Y, Vaseenon T, Heiner AD, et al. A rabbit knee model of controlled joint instability. Osteoarthritis and Cartilage 2009; 17: S49-S50.
70. Trompeter AJ, Gill K, Appleton MAC, et al. Predicting anterior cruciate ligament integrity in patients with osteoarthritis. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc 2009; 17: 595-599.
71. 内尾祐司. 変形性膝関節症とは. 変形性膝関節症の保存的治療ハンドブック 2005; 16-30.
72. Vignon E, Bejui J, Mathieu P, et al. Histological cartilage changes in a rabbit model of osteoarthritis. Journal of Rheumatology 1987; 14 104-106.
73. Wada M, Tatsuo H, Baba H, et al. Femoral intercondylar notch measurements in osteoarthritic knees. Rheumatology (Oxford)1999; 38: 554-8.
74. Watanabe Y, Yamamoto K, Kono R, et al. Effects of intraarticular injection of hyaluronic acid in a rabbit osteoarthritis model. J Tokyo Med Univ 2006; 64: 332-340.
75. Wieland HA, Michaelis M, Kirschbaum BJ, et al. Osteoarthritis-an untreatable disease? Nat Rev Drug Discov 2005; 4; 331-344.
76. Woo SL-Y, Newton PO, Mackenna DA, et al. A comparative evaluation of the mechanical properties of the rabbit medial collateral and anterior cruciate ligaments. J Biomech 1992; 25: 377-386.
77. Xerogeanes JW, Fox RJ, Takeda Y, et al. A functional comparison of animal anterior cruciate ligament models to the human anterior cruciate ligament. Annals of Biomedical Engineering 1998; 26: 345-352.
78. Yasuda K, Kondo E, Ichiyama H, et al. Anatomic reconstruction of the anteromedial and posterolateral bundles of the anterior cruciate ligament using hamstring tendon grafts. Arthroscopy 2004; 20: 1015-1025.
79. Yoshida S, Aoyagi K, Felson DT, et al. Comparison of the prevalence of radiographic osteoarthritis of the knee and hand between Japan and United States. J Rheumatol 2002; 29: 1454-1458.

80. Yoshimi T, Kikuchi T, Obara T, et al. Effects of high-molecular-weight sodium hyaluronate on experimental osteoarthrosis induced by the resection of rabbit anterior cruciate ligament. *Clin Orthop* 1994; 298: 296-304.
81. Yoshioka M, Coutts RD, Amiel D, et al. Characterization of a model of osteoarthritis in the rabbit knee. *Osteoarthritis and Cartilage* 1996; 4: 87-98.
82. Zantop T, Petersen W, Sekiya JK, et al. Anterior cruciate ligament anatomy and function relating to anatomical reconstruction. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2006; 14: 982-92.
83. Zantop T, Brucker PU, Vidal A, et al. Intraarticular rupture pattern of the ACL. *Clinical Orthop* 2007; 454: 48-53.
84. Zantop T, Petersen W, Fu FH, et al. Anatomy of the anterior cruciate ligament. *Operat Tech Orthop* 2005; 15: 20-28.
85. Zhang Y, Xu L, Nevitt MC, et al. Comparison of the prevalence of knee osteoarthritis between the elderly Chinese population in Beijing and whites in the United States. *Arthritis and Rheumatism* 2001; 44: 2065-2071.

学会発表

1. 第 81 回日本整形外科学会学術総会（札幌）2008 年 5 月
変形性膝関節症におけるヒト膝前十字靱帯各線維束の組織学的評価
膝 OA 患者における AM と PL の組織学的評価
渡辺 新、金森章浩、池田耕太郎、落合直之
2. 第 31 回日本骨・関節感染症学会（水戸）2008 年 6 月
当院における人工膝関節術後感染例の検討
渡辺 新、金森章浩、池田耕太郎、落合直之
3. 第 23 回日本整形外科学会基礎学術集会（京都）2008 年 10 月
ウサギ ACL 部分切除が滑膜・軟骨・骨密度に及ぼす影響について
渡辺 新、金森章浩、三島 初、石井朝夫、落合直之
4. 55th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society (ORS)
(Las Vegas) Feb 2009
Histological Evaluation and Comparison of the Anteromedial and
Posterolateral Bundles of the Human Anterior Cruciate Ligament of
Osteoarthritic Patients
Arata Watanabe, Akihiro Kanamori, Kotaro Ikeda, Naoyuki Ochiai
5. 55th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society (ORS)
(Las Vegas) Feb 2009
Mechanical Strength and In Vivo Evaluation of Novel Unidirectional
Porous Hydroxyapatite Substitute
Arata Watanabe, Masataka Sakane, Masashi Iwasashi, Yasushi
Suetusgu, Toru Funayama, Tetsuya Abe, Naoyuki Ochiai

6. 10eme Reunion l'AFJO (Association France-Japon d'Orthopedie)
(Okinawa) May 2009
Histological Evaluation and Comparison of the Anteromedial and
Posterolateral Bundles of the Human Anterior Cruciate Ligament of
Osteoarthritic Patients
Arata Watanabe, Akihiro Kanamori, Kotaro Ikeda, Naoyuki Ochiai

7. 第1回日本関節鏡・膝・スポーツ整形外科学会 (JOSKAS2009) (札幌)
2009年6月
変形性膝関節症におけるACL各線維束の組織学的評価と顆間窩骨棘との
関連について
渡辺 新、金森章浩、池田耕太郎、落合直之

参 考 論 文

参考論文については学術雑誌掲載論文から構成されていますが、著作権者(出版社、学会等)の許諾を得ていないため、筑波大学では電子化・公開しておりません。

なお、電子ジャーナルとして出版社から公開されていますので、契約している場合は全文を読むことができます。詳しくは下記のリンク先をご覧ください。

[doi:10.1016/j.knee.2009.12.009](https://doi.org/10.1016/j.knee.2009.12.009)