

① 基礎研究

前十字靭帯再建術におけるグラフト固定方の違いがTendon-bone healingに与える影響
-An animal study-

② 臨床研究

前十字靭帯損傷患者を対象とした前十字靭帯再建術における大腿骨側インプラントであるEnd Button CLとTightRopeの移植腱固定維持力のランダム化二群比較試験
-3DMRI,CTを用いた研究-
多施設合同研究

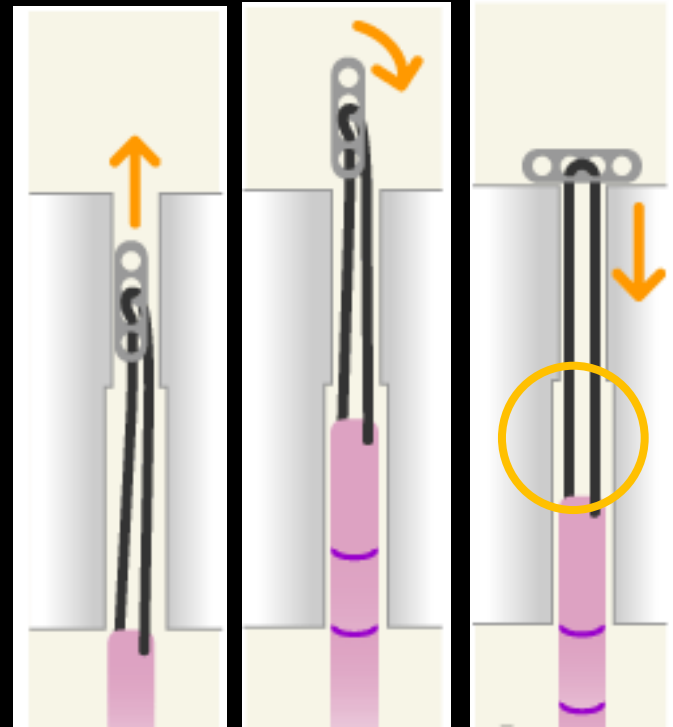
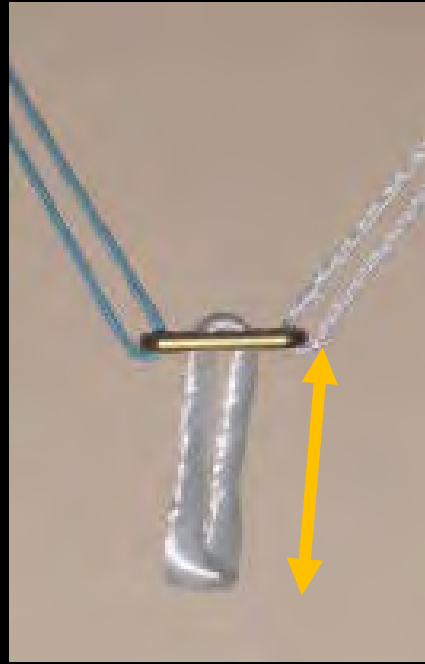
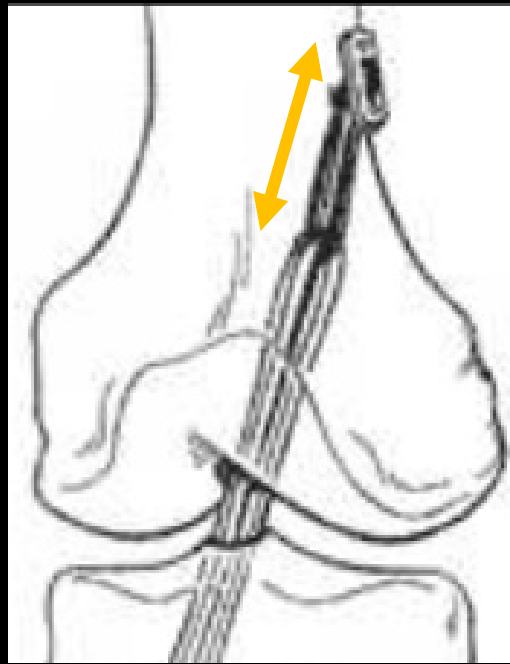
①

前十字靭帯再建術におけるグラフト固定方の
違いがTendon-bone healingに与える影響
-An animal study-

千葉大学大学院医学薬学府
先端医学薬学専攻
佐藤 祐介

背景

ENDOBUTTON CL[®]
Smith & Nephew KK

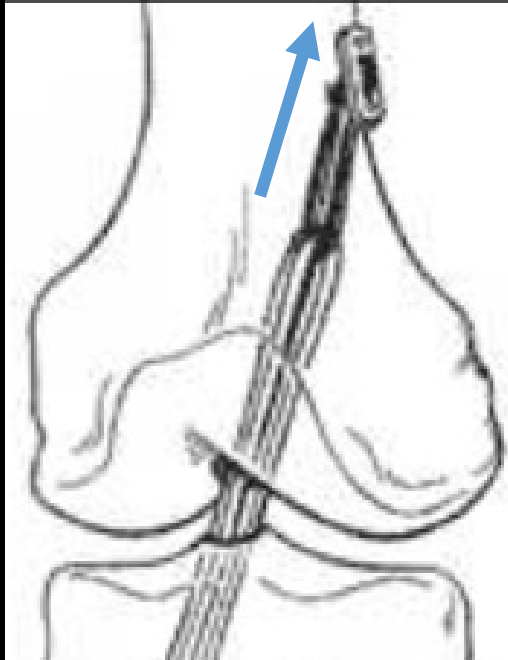


Gap

懸垂固定裝置

TightRope®

Arthrex Japan G.K.



懸垂固定装置



Non-Gap

兎におけるtendon-bone healing *Bone Joint Res* 2012;

Indirect healing

術後3～4週 type III collagen (Sharpey-like fibres) が骨孔壁と腱の間を架橋し始める

術後6～12週 type III collagen (Sharpey-like fibres) が増加
徐々にtype III collagen → type I collagenに置換

12週で置き換わる (midsubstance ruptures > pullout failures)

26週までにtype I collagenが強度を増してくる

最終的にtype I collagenとtype III collagenが密になり骨とつながる
type II collagenの関与なし

⇒この流れは人と同じと言われている (ACL再建術後のtendon bone healing)

direct healing (Normal enthesis)



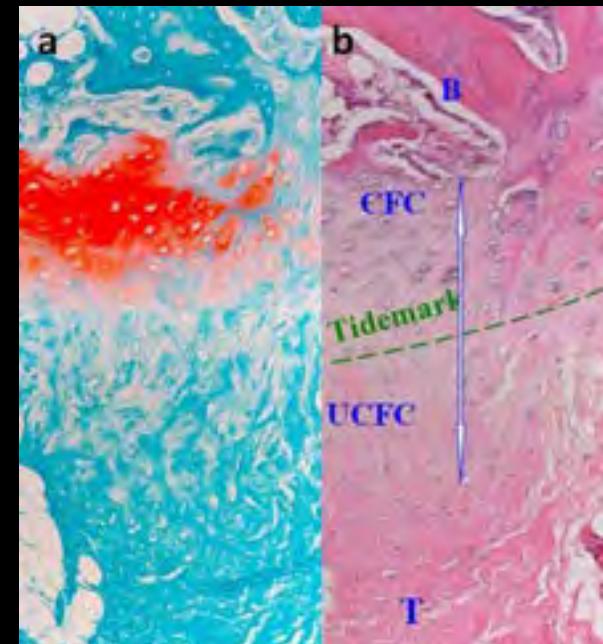
再建時にMSC、bone morphogenetic protein-2 (BMP-2)などのpromotorを使用した場合

術後2週 幼弱なコンドロサイトがTBの境界に発現

4週 から8週で規則的に配列しコンドロサイトのサイズUP

線維軟骨から腱へのスムーズな移行部位あり付着部となるあきらかな境界はない

TBの境界にはcollagen type IIが発現する



Tendon-Bone healing

Indirect healing

Direct healing

治癒過程

Type III Collagen (Sharpey-like fibres)
骨と腱の間を架橋

(ACL正常付着部)

軟骨組織が骨と腱の境界に介在

力学的強度

弱い

強い

ACL再建術後の治癒過程は正常付着部と異なり
Indirect healingが主体
骨と腱の固着まで12週を要する(rabbit)

目的

懸垂固定によるACL再建術において骨孔とGraftの間に生じるGapの有無がTendon-bone healingに与える影響を検討すること

仮説

Graftを骨孔にGapなく圧着することでTendon-bone healingが促進され力学的強度が増す

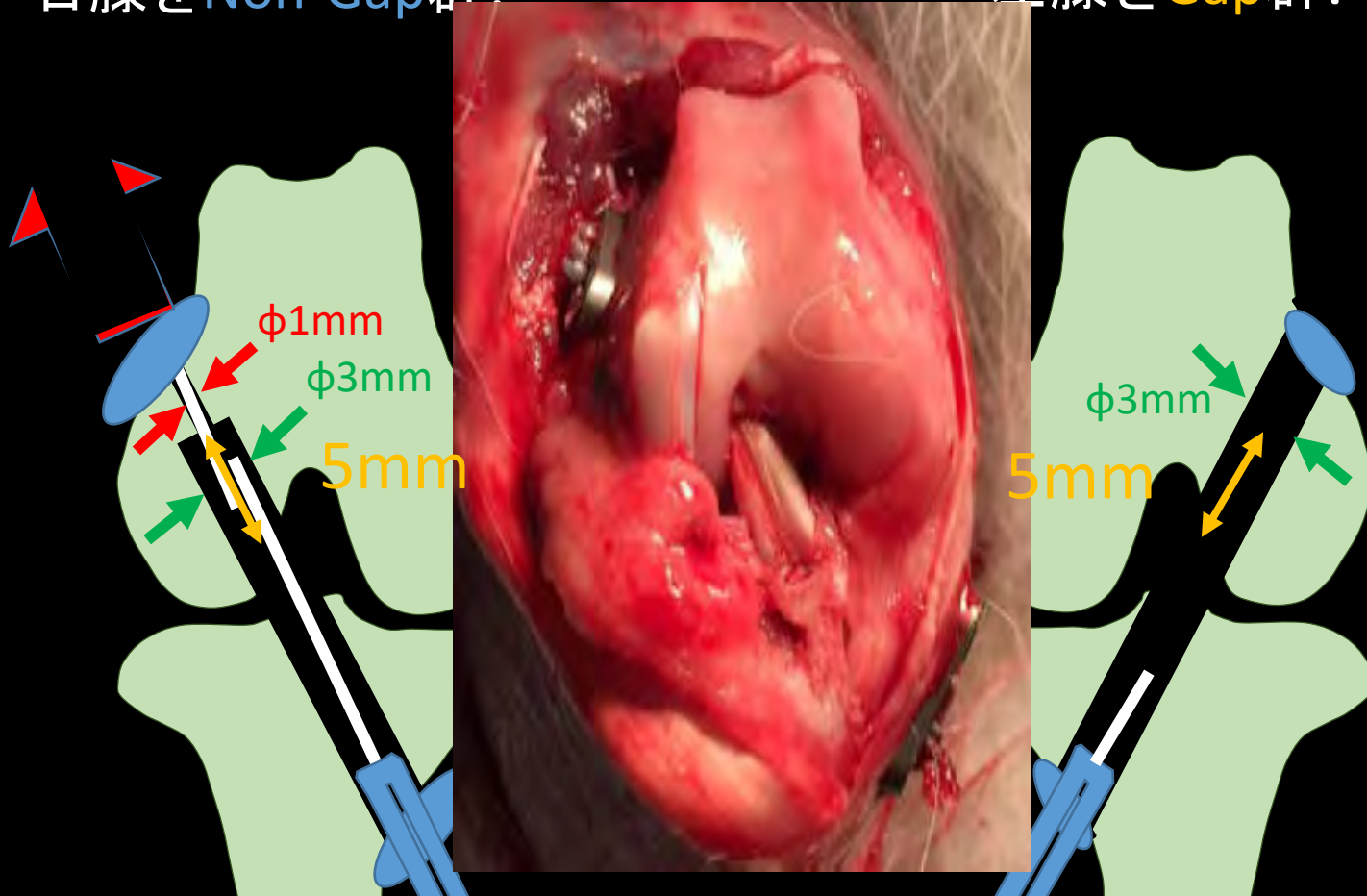
対象と方法

New Zealand White Rabbit 雌 (n=24) 骨化成熟週齡(26~30週齡)
両側の膝に足底筋腱をGraftに用いたACL再建モデル作成

術式

右膝をNon-Gap群:

左膝をGap群:



評価項目

①組織評価

(術後4週、8週で屠殺、各n=5)

固定組織肉眼所見

HE染色

SafraninO染色,

Type II, III collagen免疫染色

組織スコアリング(計0~9点)

繊維軟骨形成

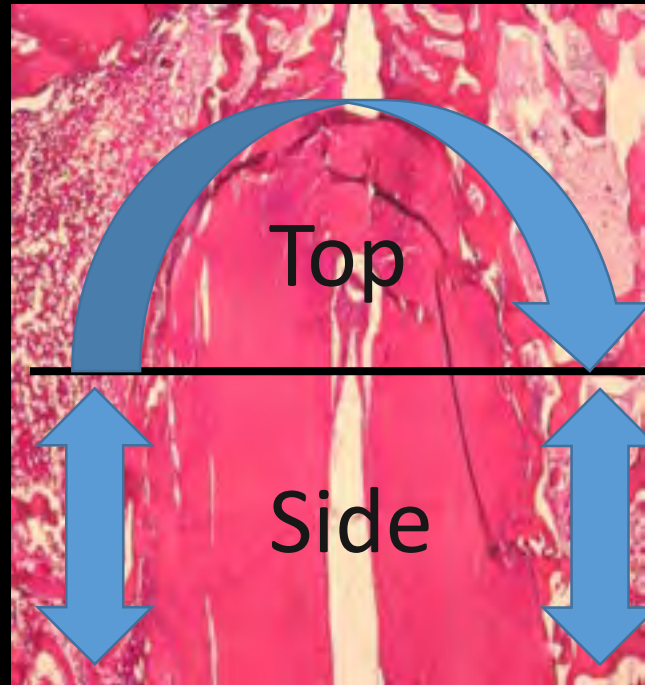
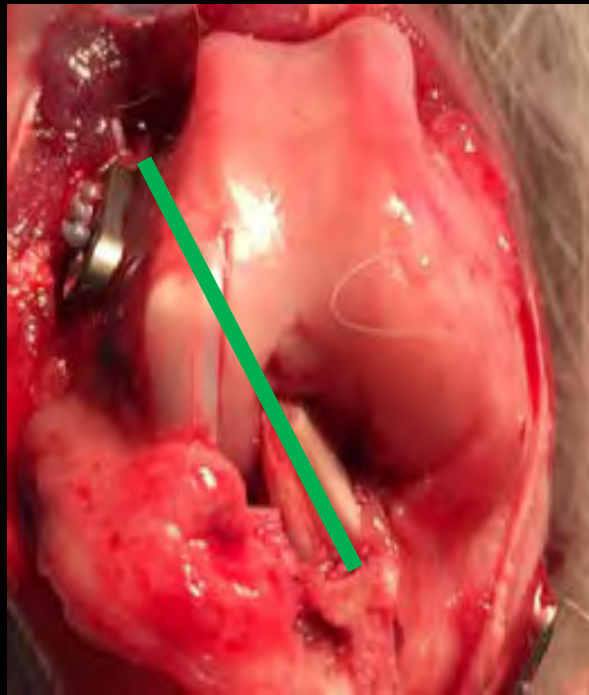
豊富	3
中程度	2
少し	1
なし	0

腱への骨侵入

豊富	3
中程度	2
少し	1
なし	0

Graftと周囲組織の接触

75%-100%	3
50%-75%	2
25%-50%	1
0%-25%	0



Yeh et al. J Orthp Res, 2012

②組織強度力学試験

術後4週、8週で屠殺、各n=6



引張試験10mm/min

→最大破断強度の有意差を検討



結果

組織評価

固定組織
肉眼所見

Non-Gap

Gap

グラフト端
形状



グラフト端
骨孔壁



4週



8週



4週



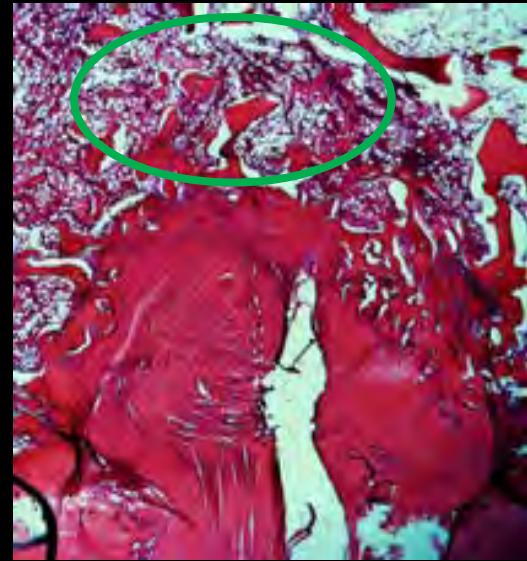
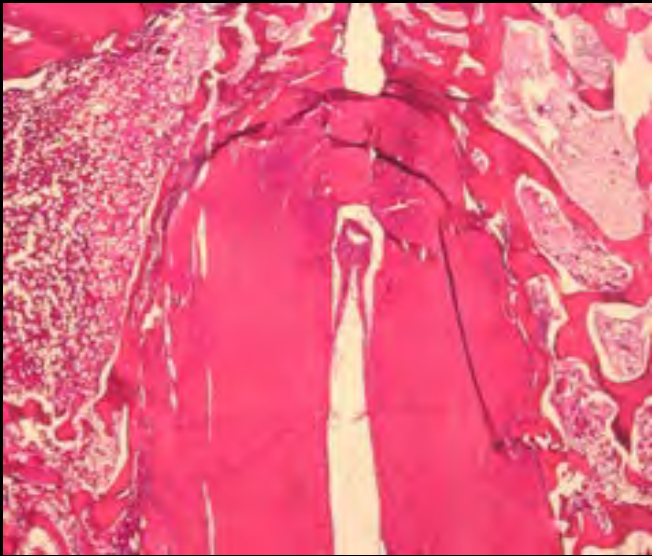
8週

HE

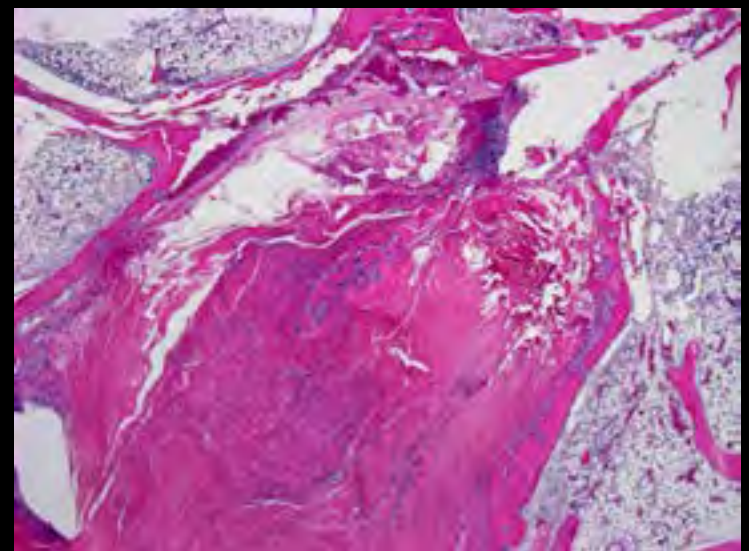
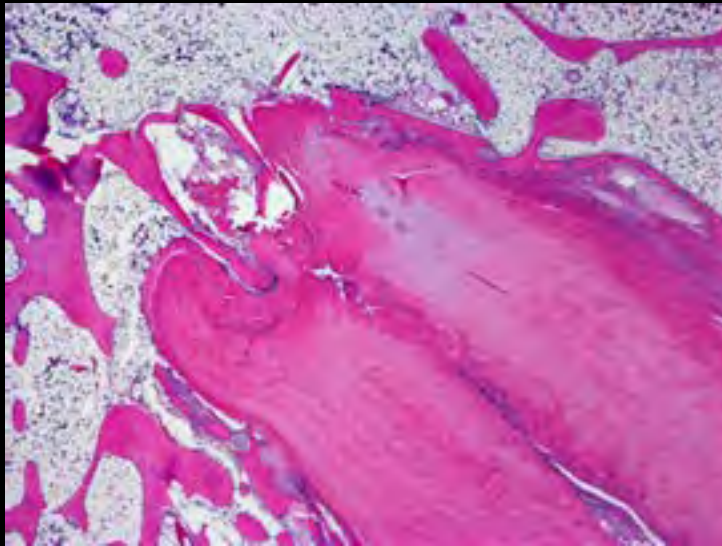
Non-Gap

Gap

4週



8週

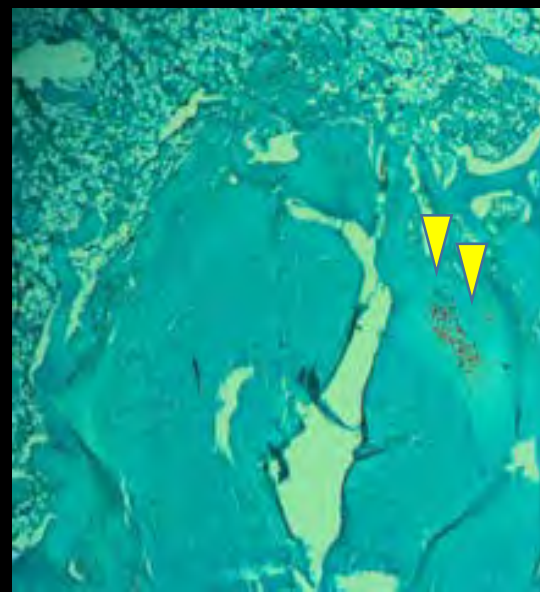


SafraninO

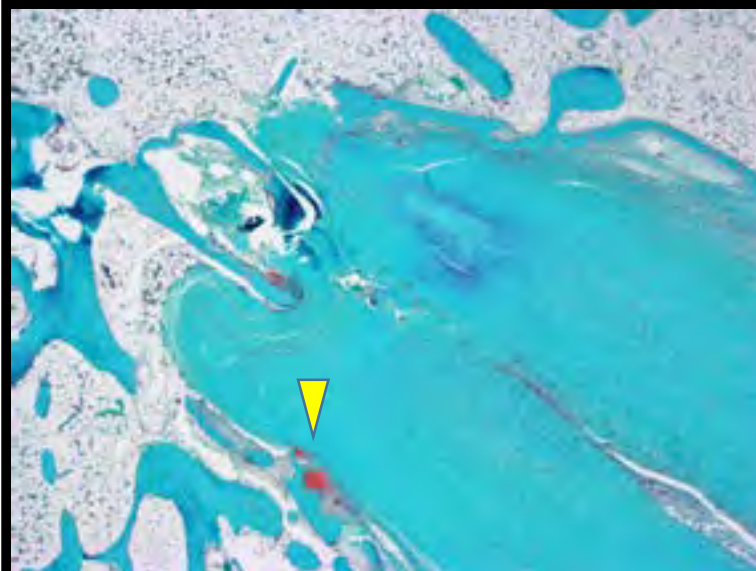
Non-Gap









Gap

4週



8週



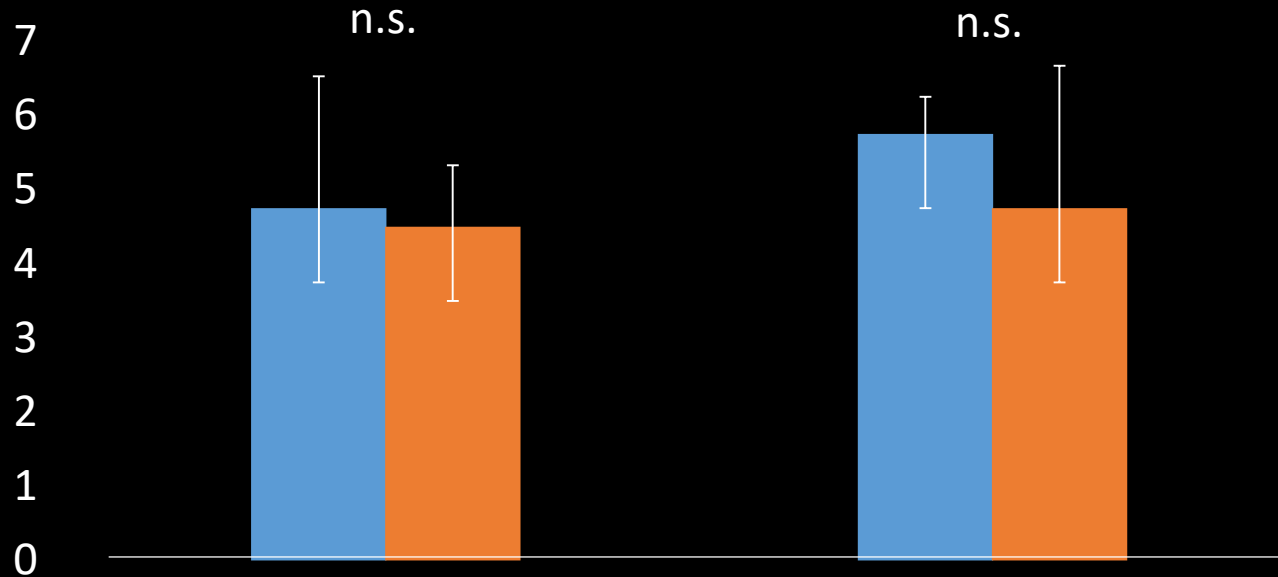
Col 免疫染色	Non-Gap		Gap	
	4週	8週	4週	8週
Collagen Type II	 <p>Collagen Type II staining in Non-Gap 4 weeks. Shows brown staining in the tissue. Three yellow arrowheads point to specific staining sites.</p>	 <p>Collagen Type II staining in Non-Gap 8 weeks. Shows brown staining in the tissue.</p>	 <p>Collagen Type II staining in Gap 4 weeks. Shows brown staining in the tissue. One yellow arrowhead points to a specific staining site.</p>	 <p>Collagen Type II staining in Gap 8 weeks. Shows brown staining in the tissue.</p>
Collagen Type III	 <p>Collagen Type III staining in Non-Gap 4 weeks. Shows brown staining in the tissue.</p>	 <p>Collagen Type III staining in Non-Gap 8 weeks. Shows brown staining in the tissue.</p>	 <p>Collagen Type III staining in Gap 4 weeks. Shows brown staining in the tissue.</p>	 <p>Collagen Type III staining in Gap 8 weeks. Shows brown staining in the tissue.</p>

組織スコア

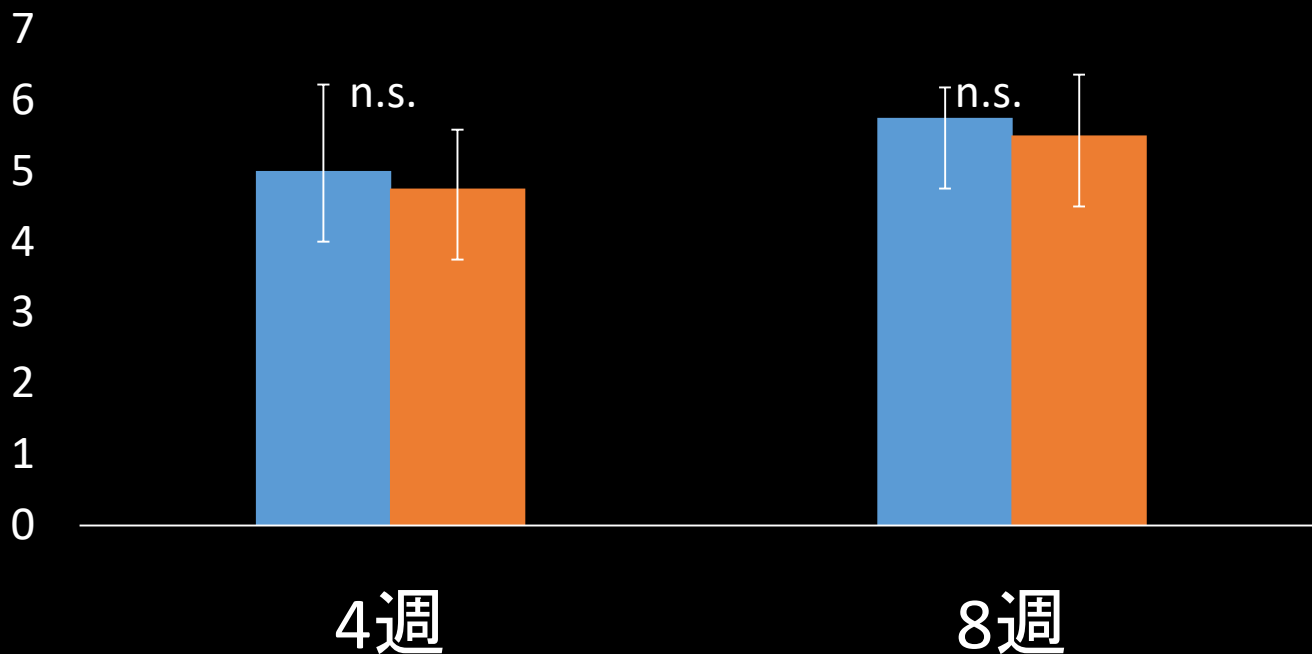
Mann-Whitney U test

■ Non-Gap ■ Gap

Top



Side



最大破断力平均值(N)

Mann-Whitney U test

(N)

30

25

20

15

10

5

0

n.s.

n.s.

15.6

13.6

12.6

17.1

4週

8週



考察

Tendon-bone healing

Indirect

Interference Screw

Tied over post screw

懸垂固定装置

Non-Gap / Gap

Direct

間葉系幹細胞

Lim.Arthroscopy,2004

Bone Morphogenetic Protein-2

Martinek.JBJS,2002

4週で一部Direct pattern



8週はType III collagenを中心とする
Indirect healing pattern

力学的強度

MSCを用いてDirect healingを誘導すると力学的強度が増す

Lim.Arthroscopy,2004

BMP-2は線維軟骨介在によりhealingし正常の付着部と同様の構造となり剛性、最大破断力が大幅に強化された

Martinek.JBJS,2002

両群ともIndirect healing主体
Non-Gap群、Gap群に有意差なし

限界

術式の比較にニュージーランドホワイトラビットを用いたmimic modelである。実際の懸垂固定装置であるタイトロープ、エンドボタンを使うには動物モデルとしては小さい。

大型動物

Smithらはinterフェレンススクリューとタイトロープによる懸垂固定の比較に**大型犬**を用いた。

近藤らはエンドボタンを用いた半腱様筋腱を用いた二重束再建を**羊**に施行している。

Zantopらは**山羊**に前十字靭帯再建を施行し移植腱挿入長差による力学的強度を報告。

小型動物

MSC

Bone Morphogenetic Protein-2

Runx2-Modified Adipose-Derived Stem Cells

CXC chemokine ligand-13 (CXCL13)

TGIF1 Gene Silencing in Tendon-Derived Stem Cells

Parathyroid Hormone [1-34]

Rabbit Rat

多く骨孔長は直径5-6mmで手術されている。

本研究ではウサギを使用しており骨孔は直径3mmである。この3mmが小さいために短期間にグラフト端上の骨孔が新生骨によりふさがれ差が出なかったのかもしれない。

また直径3mmのソケットに対しガイドピンの直径が1mmと3分の1を占めておりソケット状となるエリアが狭かったことからG群と差が出ずに同様なヒーリング経過をたどったのかもしれない。

結語

懸垂固定によるACL再建術はGapの有無に関わらずIndirect healingが主体であり組織、力学的に有意差を認めなかった

②

前十字靭帯損傷患者を対象とした前十字靭帯再建術
における大腿骨側インプラントであるエンドボタンCLと
タイトロープの移植腱固定維持力に関する
ランダム化二群比較試験

-3DMRI,CTを用いた研究-
多施設合同研究

研究資金および利益の衝突

本試験は、アルスレックス ジャパン合同会社から(アカデミア主導型受託研究契約により)受託研究費を受けて実施する。

2,431,582 円



アルスレックス ジャパン合同会社は、TRに関する情報は提供するが、試験の実施、解析、報告に係わることはない。

<研究者の利益相反>

本試験の研究代表者(および各施設の試験責任医師ならびに試験分担医師)には開示すべき利益相反はない。

1. 背景

ACL機能不全を呈し機能障害を有する症例に対しては手術的治療によって回復させることが標準的であり膝前十字靭帯再建術 (ACLR) は安定した成績をおさめている。

自家腱によるACLRが標準的治療法として世界的に認識されている。しかしながら、ACLRにおいても変形性膝関節症は高頻度に認められる。これらのACLR術後の変形性膝関節症の進展を抑止し、さらなるACLRの成績の向上を目的として種々の術式改良が行われている。

大腿骨、脛骨に作成した骨孔内における移植腱の固定法としては金属製のボタン、スクリュー、ステープルや、生体吸収性スクリューなどが一般的には用いられている。個々の固定強度には差があり、作成した骨孔の拡大にも影響する。

Femoral Fixation





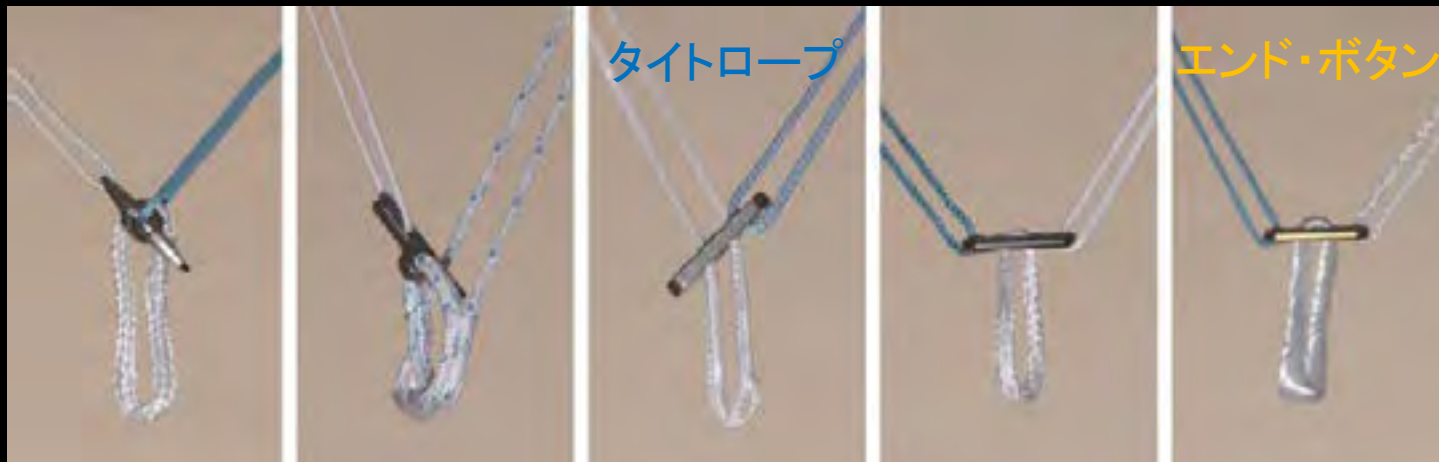
当院では金属製のボタンを大腿骨側骨孔外側にかけるボタンからの懸垂系に移植腱を吊り下げる懸垂型固定

エンド・ボタン(CLタイプ) (smith and nephew社)

骨孔長と骨孔に引きこまれる自家半腱様筋腱の長さを考慮し懸垂系部位の長さを選んで使用する

タイトロープ (Arthrex社)(TR)

骨孔内に引き込む自家半腱様筋腱の長さを関節外から調整できる。



懸垂型固定装置の破綻強度、懸垂系の伸びは力学試験(100~400Nのcyclic load 1000回)でCL 1.05 mm, TR2.2 mmと差が報告されている

TABLE 1
Biomechanical Properties of Femoral Cortical Suspension Devices^a

	Preconditioning Displacement, mm	Retensioned	Cumulative Peak Cyclic Displacement, mm	Stiffness, N/mm	Ultimate Strength, N
ENDOBUTTON	0.06 ± 0.01	NA	1.05 ± 0.05	927 ± 15	1530 ± 180
RIGIDLOOP	0.05 ± 0.03	NA	1.09 ± 0.16	1628 ± 45	1976 ± 229
TightRope	0.03 ± 0.02	No	2.20 ± 0.62	1354 ± 35	784 ± 45
TightRope	0.04 ± 0.04	Yes	1.81 ± 0.51	1353 ± 60	1020 ± 421
ToggleLoc	0.67 ± 1.49	No	3.69 ± 2.39	1480 ± 103	1995 ± 217
ToggleLoc	0.24 ± 0.12	Yes	3.22 ± 1.41	1538 ± 57	2231 ± 511
XO Button	0.16 ± 0.05	NA	1.65 ± 0.43	1747 ± 58	2218 ± 114

^aAll data reported as mean ± SD. NA, not applicable.

Jared S.Johnson, Am J Sports Med 2014

人体関節内での長期負荷における報告はない。

TRによるACLRも臨床成績は良好であるが上記の力学試験による劣性の報告もあり、術後生体膝関節内での懸垂系部分の評価が必要と考えられた。

2. 試験の目的と必要性

膝ACL損傷に対して施行されるACLR後の移植腱の張力の緩みは膝関節不安定性を増大させることが危惧される。移植腱と骨孔壁が生着するまでの長期に渡り張力が維持されることが良好な成績につながると考える。

本研究の目的は懸垂型固定装置(CLタイプとTR)の術後関節内での伸び(移植腱の転位)の有無、装置間での伸びの比較を明らかにすること。および伸びの距離と術後臨床成績を検討することである。移植腱のtension調整が行えるTRの利便性を考慮しTRの非劣性を本研究により証明する。

仮説は2群間の移植腱の転位距離に有意差はなく臨床成績もほぼ同等であるとする。

2群間に有意差を認めた場合はより伸びの少ない装置を用いた手術を行っていく、差がない場合は利便性に優れるTRでのACLRを行っていく方針である。

タイトロープの非劣性を示したい 臨床試験

3. 対象患者

対象はACL損傷による不安定膝に対し整形外科外来診察において手術適応ありと判断しACLRを施行する患者のうち以下の基準を満たすもののうち、研究への参加同意が得られた患者とする。

3.1. 選択基準

1. Lachman's testでGrade2以上の健患差を認める
2. Lateral pivot shift testが陽性である
3. MRI検査を施行した結果、前十字靭帯損傷と診断された
4. 骨端線が閉鎖している
5. 前治療として術前に可動域訓練と同時に筋力維持訓練を施行している。
膝関節可動域制限のある場合、可動域が屈曲120°以上に改善するまでリハビリテーションを施行している
6. 対象年齢は50歳未満とする
7. 患者本人又は代諾者から文書による同意が得られている

3.2. 除外基準

1. 過去に同側の前十字靭帯再建術をしたことがある。
2. スポーツ活動の希望がなく保存加療を希望されている
3. ハムストリング腱ではなく他グラフトでの手術を希望している。
4. 運動制限が指示されている内科疾患の治療中である(心不全、腎不全等)

4. 試験の方法

4.1. 試験のデザイン

ランダム化2群比較試験

対象患者においてエンドボタン,タイトロープのどちらを用いてACLRを施行するかをランダムに割付ける。

割り当てられた懸垂方固定装置を用いて前十字靭帯再建術を施行する。

術直後から術後1年まで経過観察期間中に画像検査および臨床成績の評価を行う。

なお、画像検査の評価はブラインド化で中央判定委員(放射線科医師)により実施する。また、被験者に対しては割付結果を開示する。

4.2. 症例登録・割付方法

CL,TRのどちらを用いてACLRを施行するかの割付が調整因子を考慮してランダムに行われる。両群の患者背景が均一になるように臨床試験部データセンターが行う。一度登録された患者は登録の取消し(抹消はされない)。

4.3. 割付調整因子

○年齢(骨端線閉鎖～30歳未満、30歳以上～50歳未満)

○性別

上記二つの調整因子設定根拠

前十字靭帯損傷は女性に多い(動物実験では術後T-B healingも雌<雄)

年齢により運動前の日常生活運動レベルの活動性が異なる可能性を考慮する
スポーツ開始時期である術後9～10か月以前のリハビリメニューはスポーツの種目や年齢、競技レベルによらず同じであるためスポーツ種目は調整因子としない。

4.4. 目標症例数と設定根拠

解析対象例数：30例 (CL群：15例、TR群：15例)

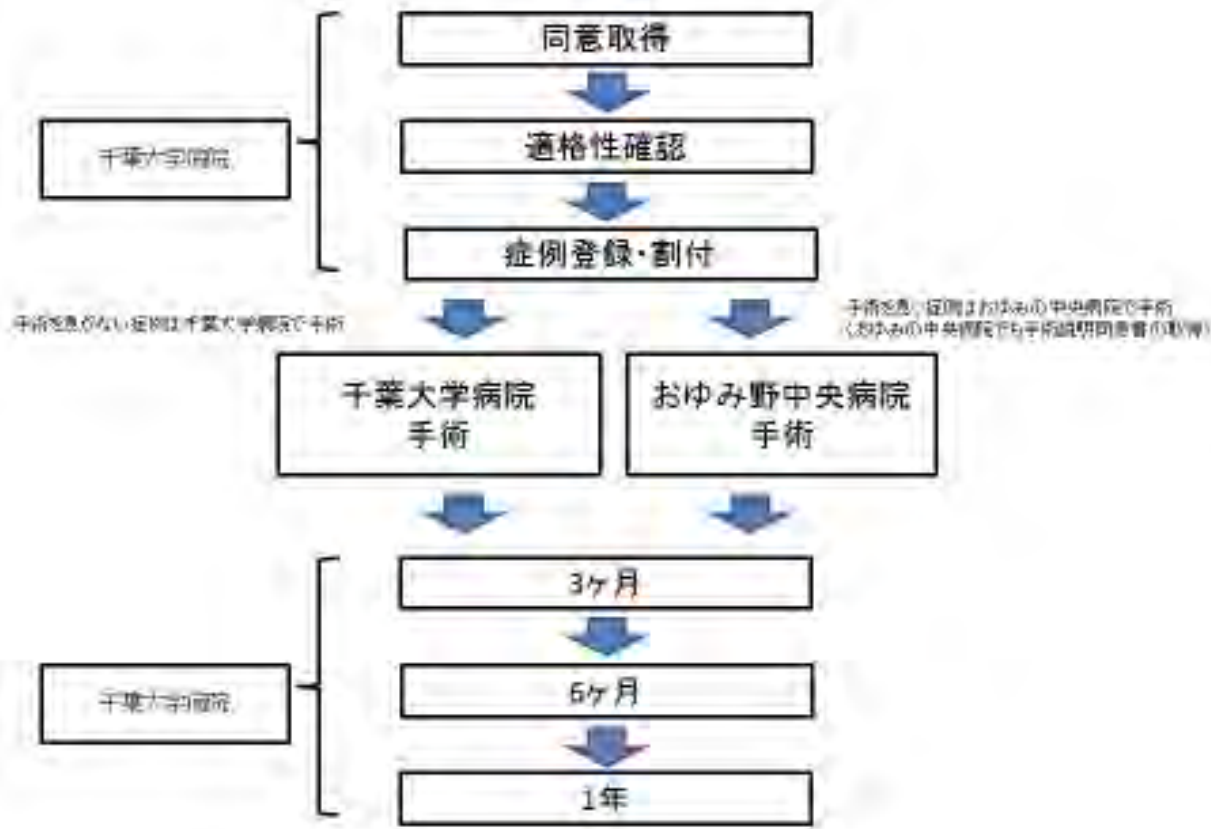
【設定根拠】

本試験の主たる解析の目的は、CL群に対しTR群が懸垂糸の伸びにおいて劣らないこと (非劣性) を示すことである。

懸垂糸の伸び：CLは $1.05\text{mm} \pm 0.05$ (平均 \pm 標準偏差), TR群は $2.2\text{mm} \pm 0.6$ (力学試験)
人体関節内においてはこの負荷より小さくなるとして、CL群とTR群の変化量をそれぞれ0.5mm、1.1mmと見積り、標準偏差は0.6とした。

また、許容限界として非劣性を-1.3mmとした。許容限界を-1.3mmとした根拠は術後の前方不安定性が健患側2mm以内であれば臨床成績はgoodとされ1mm以内であればexcellentとされる。移植腱は近位外側から遠位内側に向かって関節内を斜めに走行しているため関節内方向に1.3mm転位したとしても前方には1.3mm以内の転位にとどまると考えた。

以上に基づき、非劣性を示すための症例数は2標本t検定において有意水準片側0.025、検出力0.8の条件のもとで、1群あたり13例と計算され、合計で26例となる。脱落等を考慮して1群あたり15例、合計30例とした。



手術実施のない症例は千葉大学病院で手術

手術実施・症例はおゆみ野中央病院で手術
(おゆみ野中央病院で手術説明同意書取得済)

評價項目

主要評価項目

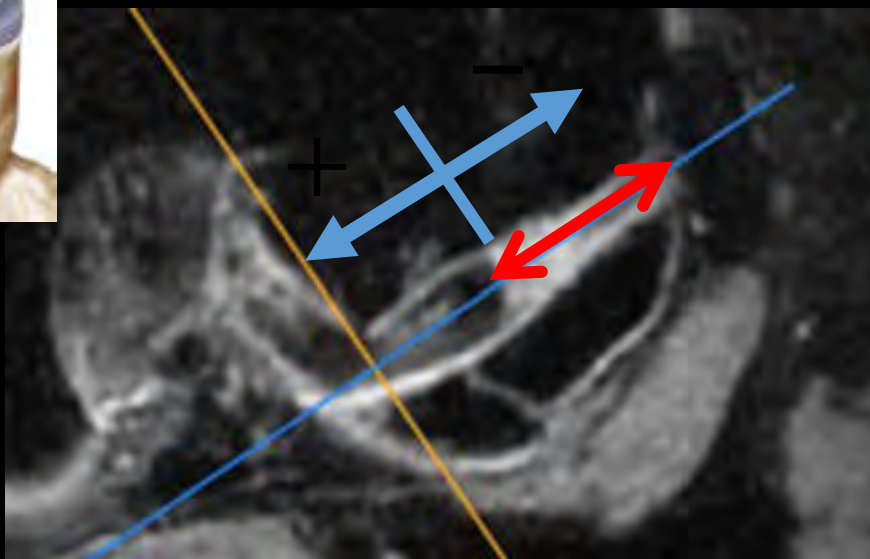
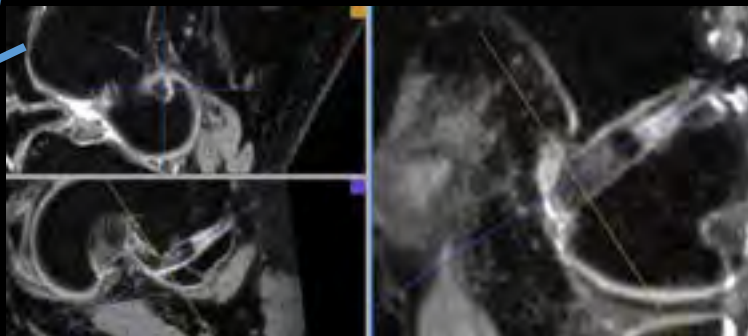
GE社 Discovery MR750 3.0T プロトン強調脂肪抑制像 3D MRI

8chコイル TR2000 TE20

画像検査①

ベースライン値(術直後)、術後3か月、術後6か月、術後1年までの経時的な懸垂糸の伸び

移動量の計測 前内側(AM)/後外側(PL)



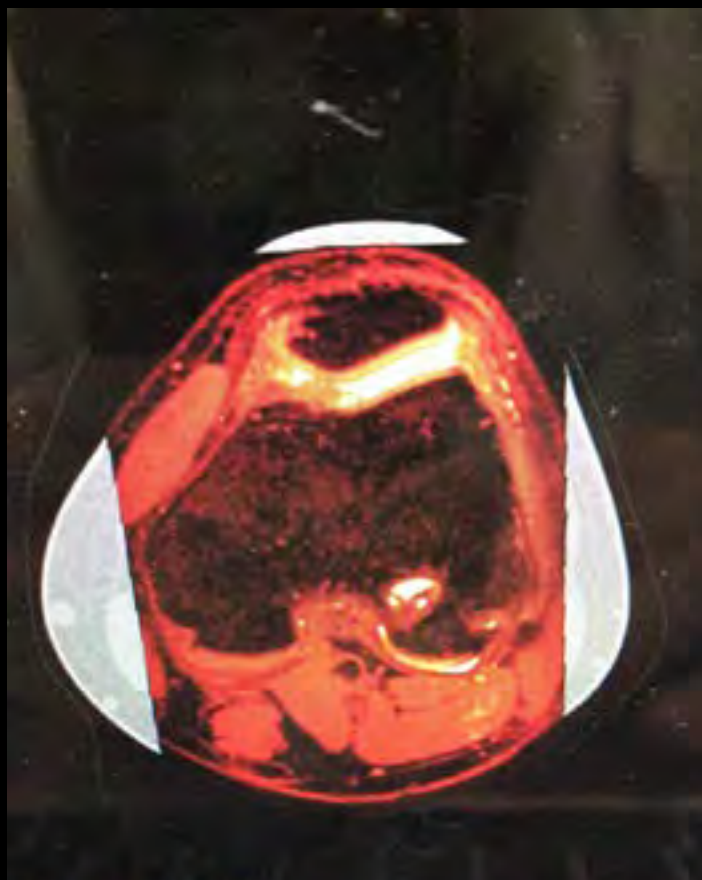
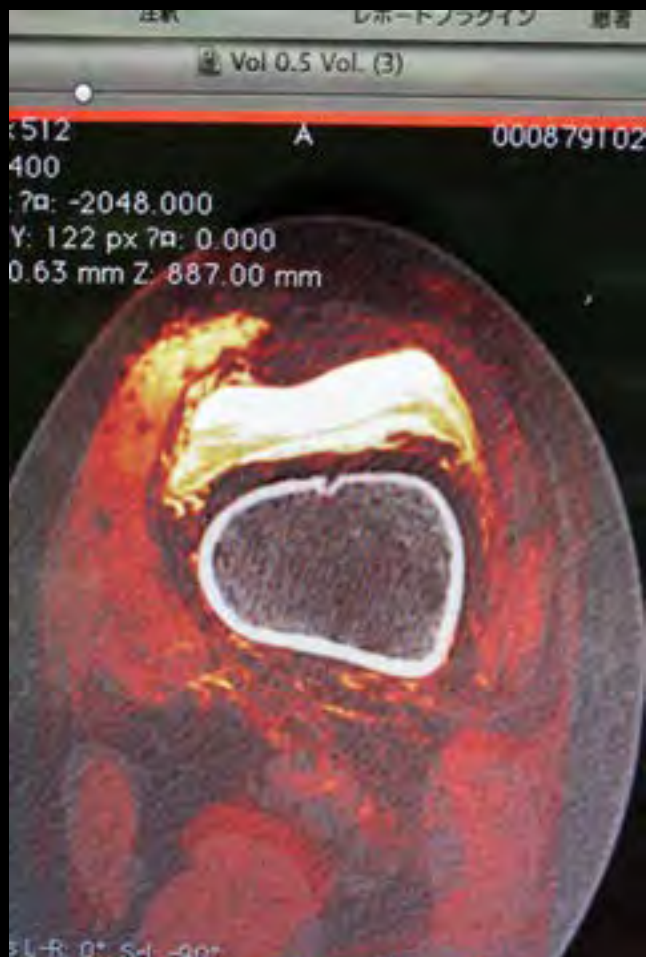
AM,PL各々の移動量の差

1年の値は参考値とし統計学的評価は術後6か月までの値を用いて行う。

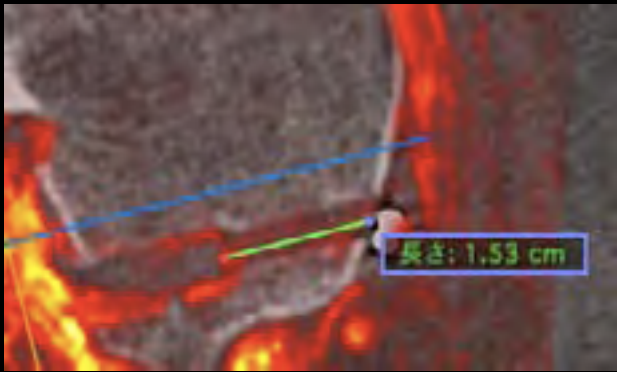
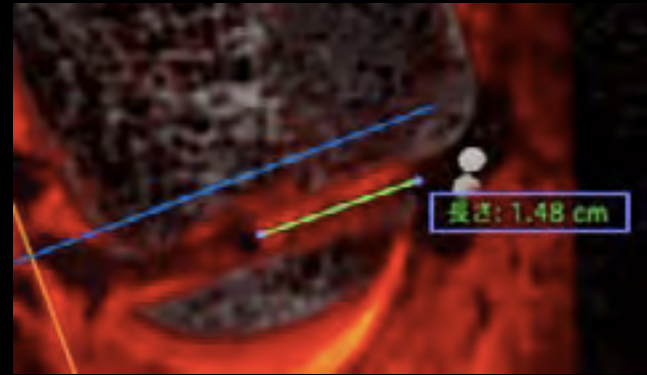
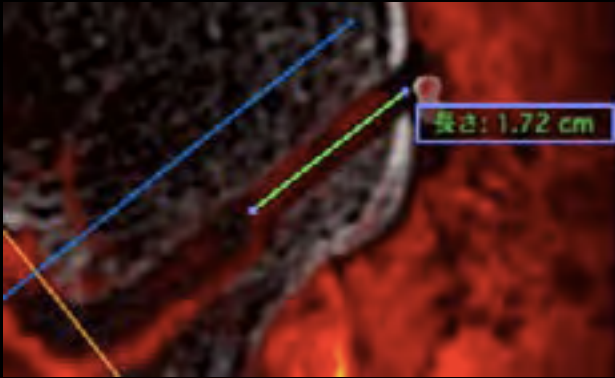
副次評価項目

画像検査②

3DMRI-CTでFusion画像を得ることができる。このFusion画像を再構成し骨孔内での移植腱の位置をより簡易に視覚化することで時系列に評価を行う。(参考値)。



OsiriX MD 8.0.2



臨床検査①

KSmeasure KSM-100(SIGMAX社)による脛骨の前方動揺性の計測。膝関節における脛骨の前方または後方動揺性を評価。術後3か月、6か月、1年において二検者で施行し患側と健側の両側のデータを収集する。



臨床検査②

One leg hop test:片脚での立ち幅跳びを3回行い、その平均を跳躍距離(hop distance)とし6か月、1年において患側と健側の両側のデータを収集する。健側に対する再建側の比をhop indexとする。

臨床検査③

Lysholmscore: 100点満点で行う。評価項目は、跛行、支持装具、階段昇降、しゃがみこみ、歩行・走行・ジャンプ、大腿四頭筋の萎縮、以上6項目である(10。合計点で評価する。術前、術後1年において評価する。

臨床検査④

変形性関節症転帰スコア(Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score)膝関節障害症例の症状および自覚的機能を検討するために作成された患者立脚型の評価である。症状(5項目)、膝関節の硬さ(2項目)、疼痛(9項目)、日常生活活動(17項目)、スポーツ・レクリエーション活動(5項目)、生活の質(4項目)、

スケジュール表

	手術前	手術日	術後1週間	術後3か月	術後6か月	術後1年	中止
受診	1	2	3	4	5	6	
MRI (主要評価項目)	○		○	○	○	○	○
CT(副次評価項目)			○			○	
脛骨前方動揺性測定 (副次評価項目)		○		○	○	○	○
Oneleg hop test (副次評価項目)					○	○	
Lisholm スコア (副次評価項目)	○					○	
変形性関節症転帰 スコア (副次評価項目)	○					○	
スポーツ	○					○	
術中所見		○					

統計

連続変数については要約統計量 (例数、平均値、標準偏差、最小値、中央値、最大値) を群ごとに算出する。群間の比較には、名義変数については、Pearson のカイ2乗検定、ただし期待度数が5未満のセルが20%以上の場合はFisherの直接確率計算法、連続変数についてはt検定を用いる。有意水準は両側5%とする。

結果

2016年 4月より 当院IRB承認 症例登録開始

現在6／30例 術後1年経過症例なし

症例の確保に難渋しております。

外勤先でのACL症例の大学病院への御紹介何卒宜しくお願いします。

月曜日に腰硬麻or全身麻酔(たまに)で手術、おゆみ野中央病院での手術が可能なので待機時間はほぼありません。