



肋骨付き肋軟骨移植による骨軟骨欠損修復の検討

芝, 昌彦

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1999-05-12

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

乙2342

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D2002342>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏名・（本籍）	しば まさ ひこ 芝 昌 彦	（香川県）
博士の専攻分野の名称	博 士（医 学）	
学位記番号	博ろ第1698号	
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当	
学位授与の日付	平成11年5月12日	
学位論文題目	肋骨付き肋軟骨移植による骨軟骨欠損修復の検討	

審 査 委 員	主査 教授 水 野 耕 作	
	教授 伊 東 宏	教授 千 原 和 夫

論 文 内 容 の 要 旨

はじめに

外傷や変性疾患による関節軟骨の損傷や欠損は、関節の機能に大きな障害を及ぼす。しかしながら関節軟骨は血管、リンパ管、神経組織を欠いており、軟骨細胞が主に関節液の拡散によって栄養されているために、一度損傷すると本来の硝子軟骨により完全に修復されるということはない。

そこでわれわれは肋骨付き肋軟骨を移植することによって、関節軟骨の欠損部が骨軟骨片で充填され、それが早期に生着するならば、関節症の発生は充分防止できると考え、家兎を用いて骨軟骨欠損修復の実験を行った。

実験材料および方法

実験動物として体重2.5～3 kgの成熟日本白色家兎40羽を用いた。

まず、右側中位肋骨に沿って皮切を加え、肋骨肋軟骨連結を中心として肋骨肋軟骨移行部を露出し、軟骨膜を付けたまま一塊として摘出した。それを厚さ1 mmの肋軟骨と長さ4 mmの肋骨からなる肋骨肋軟骨連結部と長さ5 mmの肋軟骨部に分割し成形した。

次に内側傍膝蓋骨皮切にて進入し、膝蓋大腿関節大腿骨顆部関節面にドリルを用いて直径4 mmの軟骨下骨に至る全層軟骨欠損を作成した。そこにあらかじめ採取し成形した肋骨肋軟骨連結部を移植した（Ⅰ群）。左膝関節には肋軟骨部のみを同様に移植して肋骨付き肋軟骨移植と比較した（Ⅱ群）。両群とも特に内固定はしなかった。

術後は外固定せず、ケージ内で自由に運動させ飼育した。移植後3, 6, 12, 24, 48週で、大腿骨顆部移植部位を摘出した。

摘出した移植部位に対し、移植片の脱落、周囲軟骨との境界、表面の色調などを肉眼的に観察した。その後、両群とも7 μmの厚さの矢上断薄切片を作成し、hematoxylin-eosin 変性、safranin-O 染色を行い、移植片と母床との癒合、移植片周囲の新たな軟骨形成、移植軟骨の変性の3点を中心に光顕的に観察した。客観的評価のために著者が考案した score に従い、移植片の表層の不整、基質の変性、軟骨細胞の減少、safranin-O 染色の染色性の4項目を10点満点で数値化し、比較検討した。

また移植後48週の膝においてはⅡ型コラーゲンを染色し、その染色性を光顕的に観察した。

結果

1) 肉眼的所見

移植後いずれの週においてもⅠ群およびⅡ群とも全例移植片の脱落はなく、欠損部を充分充填していたが、周囲軟骨との境界は明らかであった。しかし表面の色調はⅡ群では光沢の乏しい白色であったのに対し、Ⅰ群では充分光沢を保っていた。また両群とも移植片と周囲の関節軟骨との間に間隙のあるものはそこに肉芽組織の介在を認めた。これは移植後6週位から軟骨様になったが正常関節軟骨と比べると光沢や透明感に乏しかった

2) 組織学的所見

移植後3週のⅠ群では移植片周囲の間隙は線維性組織によって充填されていたが新たな軟骨の形成は認められなかった。肋軟骨部分の表層は糜爛などがなく平滑であり、軟骨基質に亀裂はほとんど認めなかった。移植片の肋骨部分と移植床の海綿骨との間には骨梁の連続性がみられた。

Ⅱ群においても移植片周囲の間隙は線維性組織によって充填されていた。移植軟骨の基質には一部亀裂を生じていた。肋軟骨基底部分周囲に骨梁の形成がみられたがⅠ群に比して少量であった。

移植後6週のⅠ群では移植片周囲の間隙に線維軟骨様の軟骨形成がみられ、移植片周囲には強固な骨梁形成を認めた。肋軟骨部分の基質の亀裂などはなかった。

Ⅱ群でも同様に線維軟骨様の軟骨形成が生じていたが、移植肋軟骨の基質の亀裂は増加していた。周囲の骨梁形成も増加していたが、Ⅰ群に比べると乏しかった。

移植後12週のⅠ群では線維軟骨様の軟骨形成は過剰にみられ、移植片表面を被覆しているものもあった。肋軟骨部分の基質の亀裂は認めず、肋骨部分は remodeling されていた。

Ⅱ群でも過剰な線維軟骨様形成がみられたが、基質の亀裂の増加を認めた。

移植後24週のⅠ群では移植軟骨表面は糜爛などがなく平滑であり、基質の亀裂や軟骨細胞の壊死もほとんど認めなかった。移植片と周囲の関節軟骨の境界は、間隙のある部分ではその間隙を適度に充填するように軟骨形成は減少していたが、間隙のない部分では移植軟骨と関節軟骨は境界は明らかではあるが密着し、比較的滑らかに移行していた。移植片の肋骨部分は移植床の海綿骨と完全に骨癒合し境界は識別できなかった。

これに対し、Ⅱ群では移植片周囲の間隙は連結部移植と同様に適度に充填するように軟骨が形成されていたが、移植軟骨表面は糜爛などがみられ、不整であり、基質にも亀裂を多数生じていた。また深層には軟骨細胞が広範に壊死、消失している部分もみられた。

移植後48週のⅠ群では移植軟骨の変性、移植片と母床の癒合とも移植後24週と変化なく、良好に保たれていた。しかしながら移植肋軟骨と周囲の関節軟骨との間に軟骨性癒合は認められなかった。

Ⅱ群では移植軟骨表面は不整で基質にも亀裂を多数生じており、変性所見を呈していた。移植肋軟骨と周囲の関節軟骨との間の軟骨性癒合はⅠ群と同様に認められなかった。

Ⅰ群では safranin-O による基質の染色性は全経過を通じて一様に良染されていたが、Ⅱ群では経時的に多様化し、低下していた。

両群の score 化による比較でも移植後6週まではあまり差を認めないが、24週以降では有意な差を認め ($p < 0.05$, Mann-Whitney U-test), 移植後48週ではⅠ群の 6.6 ± 1.2 点に対し、Ⅱ群は 4.6 ± 1.5 点であった。Ⅱ群における score の低下は軟骨表層の糜爛や不整、軟骨基質の亀裂の増加が主な要因であった。

移植後48週においてⅠ群では軟骨基質に中等度のⅡ型コラーゲンの染色性を認めたが、これは肋骨

肋軟骨連結近傍の肋軟骨におけるⅡ型コラーゲンの染色性と同様であった。

これに対してⅡ群ではⅡ型コラーゲンの染色性はほとんど認めなかった。

考察

関節軟骨は血管や神経組織を欠くためにその修復は通常の創傷治療とは異なった過程をとる。軟骨下骨に達しない損傷では周辺からの炎症細胞の浸潤はみられず、わずかに損傷部周囲の軟骨細胞が分裂し軟骨基質合成を行うにすぎない。一方、軟骨下骨に達する損傷では未分化間葉細胞の増殖と化生によって、線維軟骨や硝子軟骨が様々な程度に修復される。その修復の程度と損傷の大きさの関係は種によって差があり、家兎、イヌなどの小動物では直径3 mm、成人では直径5 mmの損傷が軟骨組織で修復される限界と考えられている。しかしながら再生軟骨のコラーゲン組成は正常軟骨とは異なり、また修復組織が硝子軟骨様となり充分修復されたようにみえても、長期経過とともに変性像を呈してくる。

近年、非荷重面の関節軟骨や半月板を用いた軟骨移植による修復や、骨膜、軟骨膜、培養した軟骨細胞の移植による関節軟骨の再生が実験的または臨床的に試みられているが、いずれの方法にも利点、欠点があり、未だ確立された治療法はない。そこで関節軟骨欠損に対する組織移植法として肋骨付き肋軟骨移植を実験的に行い、肋軟骨のみの移植と比較することによって検討した。

肋骨付き肋軟骨移植では肋骨部分が早期に周囲の海綿骨と骨癒合するため、他の方法と比較しても優れた固定性が得られると考えられる。また移植軟骨への栄養供給の面からその厚さは薄い方がよいが、逆に移植片の脱落が問題となる。その点、肋骨付きであれば、軟骨部分を薄くでき、かつ肋骨部分が土台となって脱落を防止することが可能である。

遊離軟骨移植では移植軟骨の変性は避けられない問題である。軟骨細胞が主に関節液の拡散によって栄養されている点を考慮すると、移植軟骨が薄い方が生着に有利である。肋骨付きで肋軟骨を移植することは軟骨部分を充分薄くすることが可能であり、かつそのことによる脱落の危険性を防止できる。本実験結果でもⅡ群では移植後24週以降に移植肋軟骨の変性像が認められたが、Ⅰ群では48週後も変性は認められなかった。移植軟骨への栄養供給の点でも肋骨部分は重要な役割を果たしていると考えられる。

また肋軟骨は関節軟骨と同様の硝子軟骨ではあるが、tide markがなくⅠ型コラーゲンが主であるなど関節軟骨と異なる点も多い。しかし肋軟骨でも肋骨肋軟骨連結近傍の部分ではⅡ型コラーゲンが染色されており、この染色性は移植後48週でも良好に維持されていた。コラーゲン組成の点からも肋骨近傍の肋軟骨を使用する方が好ましい。

本実験では両群とも移植肋軟骨と周囲の関節軟骨との間の軟骨性癒合は移植後48週においても認められなかった。軟骨性癒合は関節軟骨間同士でも難しく、肋軟骨との間では期待できないと思われる。しかし、その間隙は肋軟骨膜を付けたまま移植することによって線維軟骨様の組織で充填されていた。軟骨に付着したままの軟骨膜は軟骨産生を行わないが、軟骨を切断することによって軟骨膜の遊離端が出現し、それによって軟骨の再生が生じたと考えられる。軟骨膜の有用性について統一見解は得られていないが、軟骨膜による軟骨の保護作用やその軟骨形成能の点より軟骨膜は付けたまま移植する方がよいと思われる。

軟骨は軟骨基質の存在下では免疫学的に寛容ではあるが、分離された軟骨細胞は抗原性を有している。また肋骨付きで肋軟骨を移植する場合、肋骨部分は有抗原性であり、同種移植よりも自家移植の方が移植免疫の問題がなく、良いと思われる。

肋骨付き肋軟骨移植は離断性骨軟骨炎や時発性内顆骨壊死、骨軟骨骨折をはじめとして広く臨床応

用が可能である。

論文審査の結果の要旨

はじめに

関節軟骨の損傷や欠損は関節機能の障害をもたらす。関節軟骨は血管を持たず、関節液によって栄養されているために、その再生や修復は困難であり、硝子軟骨により完全に修復されることはない。最近では軟骨移植などによりこれらを克服しようとする研究が行われている。研究者は肋骨と軟骨を合わせ持つ肋軟骨部に着目し、骨付きの軟骨移植を行えば肋骨にも栄養が供給されて軟骨移植が成功するのではないかと考えて動物実験による研究を施行した。

対象と方法

体重2.5～3 kgの成熟日本家兎40羽を使用した。右側中央部の肋骨に皮切を加えて肋軟骨部を露出し、軟骨膜を付けたまま肋骨と軟骨を一塊として摘出した。それを厚さ1 mmの肋軟骨と長さ4 mmからなる肋骨付き肋軟骨連結部と、さらに長さ5 mmの軟骨のみの2種類の移植軟骨に成形した。その後、両膝関節を露出し、大腿骨顆部関節面にドリルにより全層軟骨欠損を作成した。右側には骨付き肋軟骨移植を左には肋軟骨のみを移植した。その後、3, 6, 12, 24, 48週で顆部を摘出して組織学的に観察した。骨付き肋軟骨移植群をⅠ群とし、肋軟骨のみの群をⅡ群として比較した。

結果

1. 肉眼的所見

Ⅰ群とⅡ群の両群ともに欠損部を十分に被覆しており、移植片の脱落はないが、周囲軟骨との境界は明瞭であった。Ⅰ群の方がⅡ群よりも軟骨面の光沢は良好であった。

2. 組織学的所見

1) 移植後3週では、Ⅰ群とⅡ群ともに周囲軟骨との間隙には線維性組織が充満しており、新しい軟骨形成は見られない。しかし、Ⅰ群の軟骨表面が円滑で糜爛もないのに対して、Ⅱ群では移植軟骨の基質には亀裂が見られた。また、基底部にはⅠ群では良好な新生骨が侵入しているのに対して、Ⅱ群では少量であった。

2) 移植後6週では、Ⅰ群において、周囲軟骨の間に線維軟骨様の軟骨が形成され、骨基質部には新生の骨梁形成が見られた。また、表面の軟骨には亀裂はない。これに対して、Ⅱ群では移植軟骨周囲には少量の骨梁が形成されていたが、基質の亀裂は増加していた。

3) 移植後12週では、Ⅰ群では、線維性軟骨の形成が十分に見られ、一部は元の軟骨表面まで覆うまでに形成されている。

4) 移植後24週では、Ⅰ群では、骨基質の部分は母床と完全に癒合し、軟骨表面も円滑であり、軟骨細胞の壊死も見られない。Ⅱ群では軟骨の表面に糜爛が多く、亀裂もあり、軟骨細胞の壊死も多くみられた。なお、周囲組織との境界にはいずれの群も硝子様軟骨で再生されることはなかった。なお、48週において、Ⅰ群の軟骨細胞においてⅡ型コラーゲンが染色されたが、Ⅱ群においては染色されなかった。

考察

本研究は関節軟骨の欠損に対して、それを再構築することを目的として施行されたものである。骨と軟骨を結合した骨付き肋軟骨部を移植することにより、移植された軟骨の栄養を維持し、その軟骨細胞のremodelingを喚起した研究である。従来行われなかった軟骨移植の研究を前進させ、関節機

能の障害を解決する糸口を与えるものとして価値ある集積であると思われる。よって、本研究者は博士（医学）の学位を得る資格があると認める。