



図2-A: 屍体解剖の全景を示す。

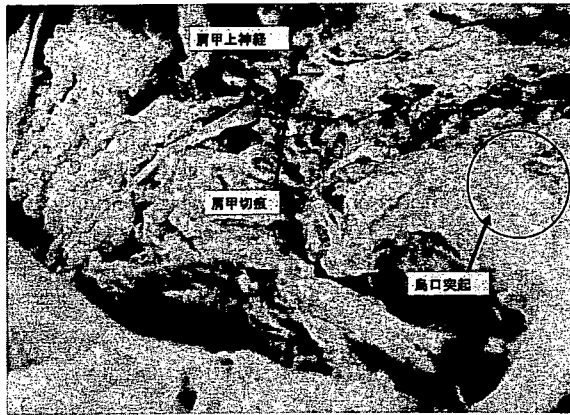


図2-B: Aにて四角で区切った部分の詳細な解剖を示す。肩甲上神経が肩甲切痕を通過している。

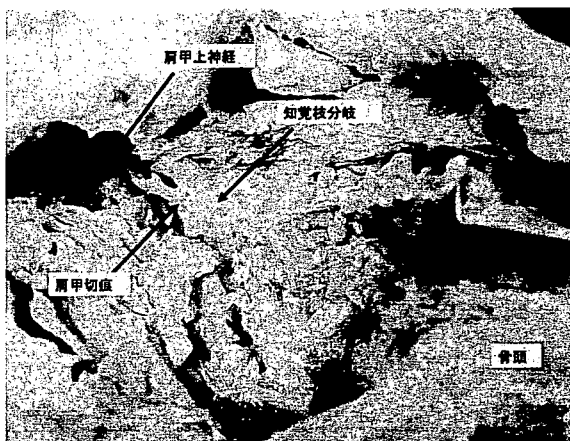


図2-C: 肩甲切痕部の解剖を示す。肩甲切痕を通過した直後に知覚枝が分岐している。

による神経ブロック法は特にブロック後4時間程度までの疼痛を抑制するのに十分な効果を得ることが可能であった。刺入時、1例に肩関節後方から上方にかけての放散痛を認めたもののブロックによる合併症の発生は見られなかった。術後鎮痛薬はブロック後4時間までの間に使用した患者はなかったが、6時間では8人中3人の患者に使用されていた。

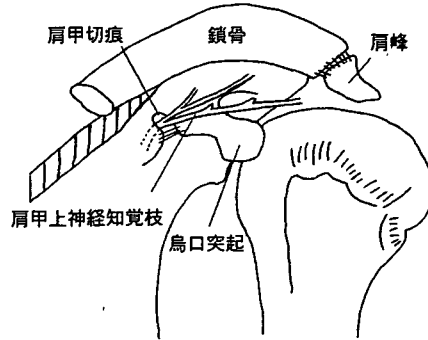


図2-D: 肩甲上神経知覚枝の走行を示す。図のように肩甲切痕を通過後、棘上筋前縁を穿通し、関節包へ向かって2~3本に分岐していた。

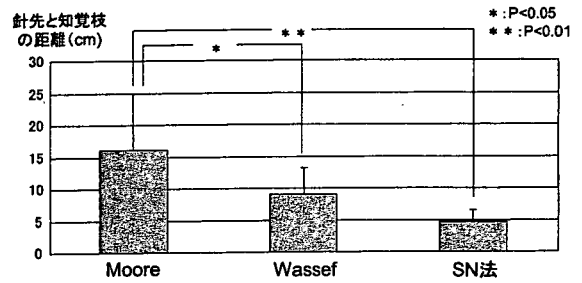


図3: 針先と肩甲上神経知覚枝の距離を示す。

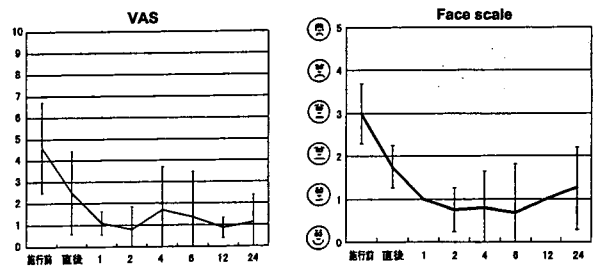


図4: VAS及びFace scaleのscoreを縦軸に、ブロック前からブロック後24時間までの時間を横軸に示す。

考 察

術後疼痛のコントロールは肩関節手術において非常に重要で、特に腱板断裂手術後の疼痛対策には様々な方法が用いられてきた。一般的に最も効果があると考えられてきたのが斜角筋間ブロックであるものの、習熟した麻酔科医によって行われても、その成功率は85～92%と報告されており、また気胸や血管内への麻酔薬の注入、交感神経ブロックによるHorner症候群等の合併症の発生も報告されている。²⁾

肩甲上神経ブロックはMooreによりその方法が報告⁵⁾された後、主に肩の慢性疼痛に対し使用されており、近年では肩関節鏡手術、及び直視下手術の術前麻酔として使用され、同等の効果が報告⁵⁾⁶⁾されている。しかし電気刺激装置を用いたブロックでも効果不十分な場合があることが報告³⁾された。また肩甲上神経知覚枝の走行は分岐部位に関しては肩甲切痕と上肩峰靭帯の間を通過した所と報告³⁾⁴⁾されているが、その後の走行の詳細な報告は少ない。そのためブロック法の開発に際し、まず肩甲上神経知覚枝の詳細な解剖を行った。今回の解剖において、棘上筋腱および肩峰および烏口突起に分布する肩甲上神経知覚枝は全て烏口突起基部を走行していた。過去の文献¹⁾⁴⁾では肩甲上神経知覚枝の破格の報告は無く、また、烏口突起基部には重要な血管等の走行が無く、この部位に刺入可能であれば、より効果的な神経ブロックが可能であると考えられた。

次に3種のブロック法を比較すると、Mooreの方法は肩甲上神経知覚枝への距離が長く、Wassefの方法では針先が腕神経叢及び肺尖部へ向かっており、合併症の危険が高いことがわかった。また、どちらの方法も刺入先のランドマークが無く、全て皮膚に垂直と記載⁵⁾⁷⁾されていた為、対象患者・及び施行者によって刺入方向にばらつきが生じると考えられた。さらに肩甲切痕をブロック刺入の目的位置としてすることは肩甲切痕より前方には肺尖部及び腕神経叢が存在し、肺損傷や神経損傷などの合併症の危険がある。これらの方法に比較してSN法は刺入方向が肺より離れる方向に向かい、刺入先のランドマークとして烏口突起の存在があり、かつ刺入先が烏口突起基部であるため重要な血管や腕神経叢、肺の存在が無く、安全にかつ一定の位置に針先を刺入することが可能であった。ブロック法において針先が一定の位置に刺入できることは、安定した効果を得るために重要である。

腱板断裂術後患者へのブロック効果では特に施行後4時間までの間に著明な疼痛改善が認められた。また、6時間以降には主にNSAIDの鎮痛薬投与がなされている患者もいるが、その併用により術後24時間までのVASが2以下に保たれている。この値がNSAIDのみにて得られるとは考えがたく、ブロックの効果が持続したことが患者の疼痛抑制に効果的に働いたと思われる。

筆者らの方法の問題点として、①刺入点から烏口突起基部までの距離が長いこと、②術後の腫脹及び内旋位固定により、烏口突起が触知し難いことがある、の2点が挙げられる。これは、①体格に合わせ80mm以上のspinal針を使用すること、②烏口突起の位置を術前にマーキングしておくこと、にて対応が可能であった。また今回の施行において合併症の発生は無かったが、伴走血管への刺入や迷走神経反射、針先による肩甲上神経損傷等の合併症は完全には否定できず、今後も臨床例による検討の必要があると考

えている。

ま と め

肩甲上神経知覚枝の詳細な解剖により、新しい肩甲上神経ブロックの開発を行った。筆者らの方法は刺入先の位置が一定であり、肺や腕神経叢、重要な血管の存在がブロック範囲に存在しない為、安全な方法であることが確認できた。直視下腱板縫合術後の患者に対しても著明な効果が確認でき、術後疼痛の抑制方法として筆者らの方法は有用であると考えられた。

文 献

- 1) Ajmani M.L.: The cutaneous branch of the human suprascapular nerve. *Journal of Anatomy*, 1994; 185: 439-442.
- 2) Conn A.R, et al: Interscalene block anesthesia for shoulder surgery. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 1987; 216: 94-98.
- 3) Gulcin K.K, et al: Suprascapular nerve block for pain relief in adhesive capsulitis: Comparison of 2 different techniques. *Arch Phys Med Rehabil*, 2002; 83: 593-597.
- 4) Horiguchi M.: The cutaneous branch of some human suprascapular nerves. *Journal of Anatomy*, 1980; 130: 191-195.
- 5) Moore DC: *Regional Block*, 4th ed, Springfield, IL, Charles C. Thomas, 1965, 300-303.
- 6) Ritchie D.E, et al: Suprascapular nerve block for postoperative pain relief in arthroscopic shoulder surgery: A new modality?. *Anesthesia and Analgesia*, 1997; 84: 1306-1312.
- 7) Wassef M.R: Suprascapular nerve block: A new approach for the management of frozen shoulder. *Anesthesia*, 1992; 47: 120-124.

修復不能な広範囲腱板断裂に対する Paavolainen 法の中期治療成績

北海道大学医学部整形外科

松橋 智 弥・末 永 直 樹

大 泉 尚 美・山 根 慎太郎

久 田 幸 由・三 浪 明 男

美唄労災病院整形外科

笠 島 俊 彦

Infraspinatus / Teres Minor Transfer for the Treatment of Irreparable Rotator Cuff Tears

by

MATSUHASHI Tomoya, SUENAGA Naoki, OIZUMI Naomi,
YAMANE Shintaro, HISADA Yukiyo, MINAMI Akio
Department of Orthopaedic Surgery, Hokkaido University School of Medicine

KASASHIMA Toshihiko
Bibai Rousai Hospital

Treatment of irreparable rotator cuff tears remains controversial. Infraspinatus / teres minor transfer to the greater tuberosity has been proposed for the treatment of irreparable tears associated with severe functional impairment and chronic, disabling pain by Paavolainen et al. in 1990. After that, however, there were few reports of mid- or long-term follow-up studies. Our purpose of this study was to investigate and analyze the results of the Paavolainen's procedure over 3 years. From 1986 to 2003, 18 patients with 18 irreparable, massive tears were managed with an Infraspinatus / teres minor transfer and were evaluated clinically and radiographically after an average of 5.7 years. The study group included 9 men and 9 women, with an average age of 66.9 years old at the time of the surgery. The outcome assessment included the JOA and DASH scores and the range of motion of active flexion and external rotation. Osteoarthritis and upper migration of the humeral head were evaluated on standardized radiographs. The mean JOA score improved from 45.7 preoperatively to 74.6 at the time of the follow-up. The mean postoperative DASH score was 27.9. Flexion increased from 82.5° to 123.4°. There was no significant improvement in external rotation. 15 had significant progress of the osteoarthritic change and 13 had progress of the upper migration of the humeral head. 12 patients were satisfied with their shoulder condition. 3 shoulders had rupture of the transferred tendon and another had humeral head replacement with a latissimus dorsi transfer. Though the disabling pain improved in most patients, the osteoarthritic change progressed in 83.3% and further long-term follow-up was necessary.

Key words : 修復不能な広範囲腱板断裂 (Irreparable Rotator Cuff Tear), Paavolainen 法 (Paavolainen's Procedure)

はじめに

広範囲腱板断裂の手術治療においては McLaughlin 法が第一選択であるが⁹、陳旧例では腱断端が薄く脆弱であったり、十分に引き出せず修復不能な場合も少なくない。修復不能な広範囲断裂に対しては種々の方法が報告されているが、いまだ確立されたものはない¹⁾³⁾⁷⁾¹⁰⁾。Paavolainen 法は棘下筋・小円筋腱を骨片付きで上腕二頭筋長頭腱後方の大結節部に移行させる方法で1990年にPaavolainenにより初めて報告された⁷⁾。以後、短期の良好な成績の報告⁷⁾¹⁰⁾は散見されるが、中長期の成績は不明である。本研究の目的は修復不能な広範囲腱板断裂に対する Paavolainen 法の中長期治療成績を調査することである。

対象と方法

対象症例は、1996-2003年の間に当科および関連病院にて Paavolainen 法を行い、3年以上経過した23例中、経過観察可能であった18例18肩である。本研究における Paavolainen 法の手術適応は、小円筋腱が残存している広範囲断裂で、腱断端を新鮮化したのちに滑液包の癒着を剥離し、肩関節包および烏口上腕靭帯の烏口突起基部での切離などを含む、関節内外の十分な mobilization 後に、引き出した腱断端が回旋中間位、下垂位で上腕骨頭頂部より外側に縫合できない場合とした。男性9例、女性9例で、患側は右14肩、左4肩、手術時年齢は平均66.7歳(51-74歳)であった(表1A)。断裂腱は、全例とも棘下筋・棘下筋腱であった。移行腱は、残存した棘下筋腱のみが7例、棘下筋・小円筋腱が4例、小円筋腱が7例であった。

【手術方法】はじめに棘下筋または小円筋腱附着部を幅15mm、深さ10mmの骨片付きで翻転する。次に上腕二頭筋長頭腱後方の大結節部から同様の骨片を採取し、移行骨片摘出部位に移植しスクリューで固定する(図1A)。移行筋腱は作製した骨溝内にスーチャーアンカーを設置して糸を腱にかけて縫合し、骨片はスクリューで固定し、移行腱の前方は肩甲下筋腱と縫合する(図1B)。全例に烏口肩峰アーチの除圧を併用した。術後は8週間の外転枕固定を行い、後療法として術後2週よりCPMを使用し肩関節90°外転位にて内・外旋運動、モビライゼーション、滑車運動、挙上・内旋・外旋の他動運動、6週より水中での自動運動を開始し、10-12週で地上での自動運動を開始し、12週より外転抵

表1 A 症例データ 1

症例	年齢	患側	経過期間(月)	断裂腱	移行腱	術前 JOAスコア	術後 JOAスコア	術前疼痛スコア	術後疼痛スコア	術前屈曲(°)	術後屈曲(°)
1	56	右	41	SSP + ISP	1/2 TMI	42.0	84.0	5	30	60	135
2	74	右	58	SSP + ISP	TMI	50.0	50.0	5	5	150	100
3	68	右	79	SSP + 1/2 ISP	ISP	44.0	77.0	5	20	90	150
4	62	右	72	SSP + 1/2 ISP	ISP	55.0	83.0	5	25	145	180
5	73	左	40	SSP + 1/2 ISP	ISP	38.5	90.0	10	25	40	90
6	60	右	87	SSP + 1/2 ISP	ISP	30.0	93.0	10	25	80	135
7	73	右	95	SSP + 1/2 ISP	ISP	50.5	92.0	5	20	90	170
8	73	左	36	SSP + 1/2 ISP	1/2 ISP	36.5	59.0	5	25	80	80
9	62	右	60	SSP + ISP	1/2 TMI	28.5	69.0	10	25	40	100
10	62	右	114	SSP + 1/2 ISP	ISP + TMI	60.0	88.0	5	20	90	170
11	68	右	73	SSP + 1/2 ISP	ISP + TMI	28.0	81.0	5	20	45	150
12	71	左	55	SSP + 1/4 ISP	ISP + TMI	59.0	80.5	10	25	130	140
13	72	右	82	SSP + ISP	TMI	36.0	68.0	10	30	20	70
14	71	右	62	SSP + 1/2 ISP	ISP + TMI	36.0	90.0	5	30	30	160
15	51	右	73	SSP + ISP	TMI	64.0	83.5	10	30	70	160
16	70	右	64	SSP + 1/4 ISP	1/4 ISP	68.0	48.0	10	15	150	80
17	70	右	62	SSP + ISP	TMI	64.0	60.0	5	15	130	100
18	65	左	93	SSP + ISP	TMI	32.0	32.0	0	0	90	70
平均	66.9		70.4			45.7	74.6*	6.9	21.9*	82.5	123.4*

SSP: 棘下筋, ISP: 棘下筋, TMI: 小円筋, *: p<0.05

抗運動を行った。

調査項目は日整会肩関節疾患治療成績判定基準(以下、JOAスコア)、疼痛スコア、関節可動域、単純X線正面像で変形性関節症(以下、OA)の進行と上腕骨頭上方化の進行の有無、上肢障害評価表(以下DASHスコア)、再断裂や追加手術の有無を調査した。臨床成績はJOAスコアを用い、90点以上を優、80点以上を良、70点以上を可、69点以下を不可として評価した。OAと上腕骨頭上方化の評価は、大泉らの方法⁶⁾に準じ、単純X線正面像で明らかなOA所見のないものをgrade 0、骨棘形成を認めるものをgrade I、関節列隙が狭小化しているものをgrade II、関節列隙が消失しているものをgrade IIIとして分類し、上腕骨頭の上方向化の程度は、関節窩の下1/2を三等分して上腕骨頭関節面下縁の高さによりgrade 0からIVまで分類した(図2)。また、骨棘が存在する場合、これを除いてGrade分類を行った。統計学的検討はMann-Whitney's U Testを用いて行い、危険率5%以下を有意とした。

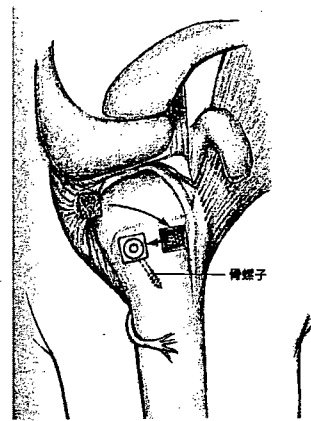


図1A. 棘下筋・小円筋腱の移行

棘下筋または小円筋腱附着部を幅15mm、深さ10mmの骨片付きで翻転する。次に上腕二頭筋長頭腱後方の大結節部から同様の骨片を採取し、移行骨片摘出部位に移植しスクリューで固定する

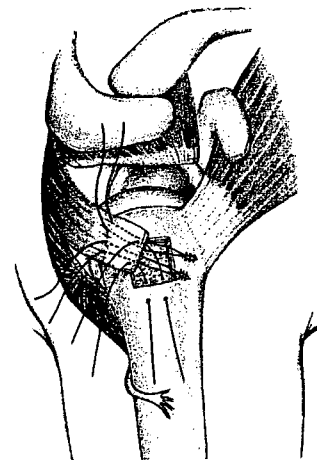


図1B. 棘下筋・小円筋腱の固定

移行筋腱は作製した骨溝内に suture anchor を設置して糸を腱にかけて縫合し、骨片はスクリューで固定し、移行腱の前方は肩甲下筋腱と縫合する。

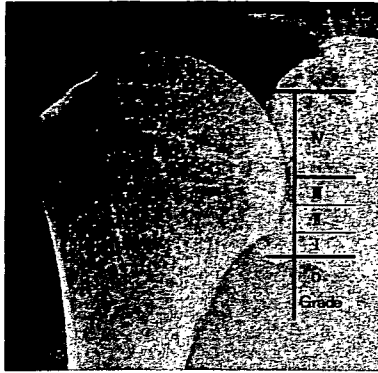


図2 上腕骨頭上方化の grade 分類
 関節窩の下部 1/2 を三等分し、上腕骨頭関節面下縁がどの高さにあるかで grade 0 から IV まで分類

結 果

JOA スコアは術前平均 45.7 点 (28-68 点) から術後平均 73.8 点 (32-93 点) と有意に改善し、18 例中 14 例 (77.8%) で改善した。術後の成績は優 4 例、良 6 例、可 1 例、および不可 7 例で、改善しなかった 4 例はいずれも不可であった。80 点以上の成績良好群は 10 肩 (55.6%) で、69 点以下の成績不良群は 7 肩 (38.9%) だった。

疼痛スコアは、30 点満点中、術前平均 7 点 (0-10 点) から術後平均 21 点 (0-30 点) と有意に改善し、18 例中 16 例 (88.9%) で改善した (表 1A,B)。屈曲可動域は術前平均 85° (20-150°) より術後平均 122.8° (50-180°) と有意に改善していたが、内旋可動域、下垂位外旋可動域の改善は認めなかった (表 1A,B)。術後の DASH スコアは平均 26.6 点 (8-66.4 点) で、18 例中 13 例 (72.2%) が手術に満足していた (表 1B)。単純 X 線で 15 肩 (83.3%) に OA の進行を認め、13 肩 (66.7%) に骨頭上方化の進行を認めた (表 1B)。18 肩中 3 肩で移行腱が再断裂し、この内 1 肩は移行腱にもともと関節面断裂を認めていた症例であった。追加手術として 1 肩は広背筋移行術を併用した人工骨頭置換術を行い、2 肩は再縫合を行った。9 肩でスクリーンの抜去を行った (表 1B)。

症例供覧

症例 1 : 56 歳男性、主訴は左肩痛で、明らかな外傷歴なし。術前 JOA スコア 42 点、疼痛スコア 5 点、可動域は屈曲 60°、内旋 Th12、

表 1 B 症例データ 1

症例	合併	再断裂	術前外旋 (°)	術後外旋 (°)	術前内旋	術後内旋	術前 OA (grade)	術後 OA (grade)	術前骨頭上方化 (grade)	術後骨頭上方化 (grade)	DASH スコア
1	(+)	(-)	10	15	T12	T12	0	I	I	II	10.8
2	(+)	(+)	10	-10	L1	L4	II	III	I	III	44.2
3	(+)	(-)	20	30	S1	L2	I	II	I	II	80
4	(-)	(-)	30	45	L1	Th7	0	II	I	II	25
5	(-)	(-)	0	35	Hi	L2	I	II	III	II	28.4
6	(-)	(-)	10	45	L5	L1	0	I	0	0	6.5
7	(-)	(-)	20	30	L1	L1	0	II	0	I	6.7
8	(-)	(-)	30	18	L5	L1	I	I	0	I	50.8
9	(+)	(-)	10	10	L5	L5	II	III	III	III	8
10	(+)	(-)	30	-10	Th8	L1	0	II	0	III	6.7
11	(-)	(-)	20	25	L2	L1	I	I	I	I	28.6
12	(+)	(-)	0	0	L1	T10	0	I	II	II	15
13	(-)	(-)	-20	20	L3	T12	I	II	I	III	57.6
14	(-)	(-)	0	0	L1	T7	0	I	I	I	15
15	(-)	(-)	30	0	Th8	Th8	0	II	I	III	2.5
16	(+)	(+)	10	0	T12	L5	0	III	I	IV	56.4
17	(+)	(-)	40	10	T12	L1	0	I	0	I	20.8
18	(+)	(+)	-20	-20	L1	L1	I	I	I	I	
平均			13.1	14.7							26.5

下垂位外旋 10°。単純 X 線上、OA は Grade 0、骨頭上方化は Grade I であり、MRI 上、棘上筋・棘下筋腱の広範囲断裂を認めた (図 3A,B)。手術は、骨片付きの小円筋腱移行術を施行した。術後 3 年 5 ヶ月の最終調査時は再断裂なく、JOA スコア 84 点、疼痛スコア 30 点と改善していた。可動域は、屈曲が 135° と改善し、内旋は Th12、下垂位外旋は 15° とあまり変化はなかった。単純 X 線上、OA は Grade I、骨頭上方化は Grade II と進行を認めたが、DASH スコアは 10.8 点で手術に満足している (図 3C、表 1B)。

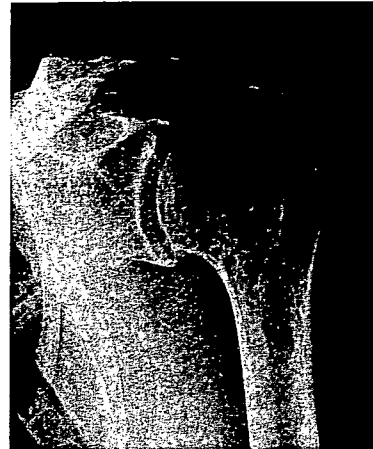


図 3A. 症例 1 の術前単純 X 線像 : 正面像
 OA : Grade 0、骨頭上方化 : grade I

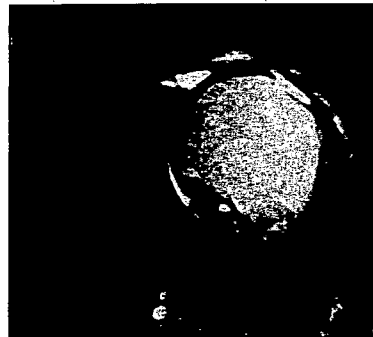


図 3 B. 症例 1 の術前 MRI-T2 強調像 : 冠状断面像
 棘上筋腱～棘下筋腱の断裂を認めた。



図 3 C. 術後 41 ヶ月、症例 1 の術後単純 X 線像 : 正面像
 OA : Grade I、骨頭上方化 : grade II

症例2: 74歳男性, 主訴は右肩痛で, 明らかな外傷歴なし. 術前 JOA スコア 50点, 疼痛スコア5点, 可動域は屈曲150°, 内旋L1, 下垂位外旋10°, 単純X線上, OAはGrade II, 骨頭上方化はGrade Iであり, MRI上, 棘上筋腱・棘下筋腱の広範囲断裂を認めた(図4AB, 表1A). 手術は, 骨片付きの小円筋腱移行術を施行した. 術後4年9ヵ月で, 著明な肩痛とそれに伴う可動域制限を認め, JOA スコア25点, 疼痛スコア5点, 可動域は屈曲60°,



図4 A. 症例2の術前単純X線像: 正面像
OA: Grade II, 骨頭上方化: grade I

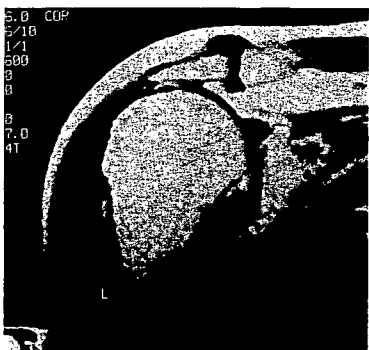


図4 B. 例2の術前MRI-T2強調像: 冠状断像
棘上筋腱～棘下筋腱の断裂を認めた.



図4 C. 術後56ヵ月, 症例2の術後単純X線像: 正面像
OA: Grade III, 骨頭上方化: grade III

内旋L4, 下垂位外旋は-10°と増悪し, 単純X線上, OAはGrade III, 骨頭上方化はGrade IIと進行を認めた(図4C). この症例に対し, 追加手術を行い, 移行腱が再断裂していたのを確認し, 広背筋移行術を併用した人工骨頭置換術を施行した(図4D, 表1B).



図4 D. 再術後の単純X線像: 正面像
広背筋移行術を併用した人工骨頭置換術を行った.

考 察

修復不能な広範囲腱板断裂の治療法として種々の方法が報告されているが, 確立された方法はない¹⁾⁵⁾⁷⁾¹⁰⁾. 我々は, このような症例に対し骨片付き棘下筋・小円筋腱移行術, いわゆる Paavolainen法を行ってきた⁷⁾. Paavolainen法の利点として, 1)自家移植であること, 2)一皮切で手術が可能であること, 3)手技が比較的容易であること, が挙げられる. 注意点は, 1)移行する骨片が小さい場合や骨粗鬆が強い場合に固定性が低下すること, 2)小円筋の移行時に腋窩神経損傷を合併する可能性があること, 3)腱移行時, 前方をきつく縫合すると骨頭が後上方へ亜脱臼する可能性があること, が挙げられる. また, 移行腱に関節面断裂があった症例で, 移行後再断裂を起こした経験があるため, 以後, 移行腱が不全断裂を合併している場合は本法の適応外とした.

Paavolainenらが初めて報告した骨片付き筋腱移行術は症例33例, 経過観察1年以上で外転平均135°と良好な短期成績が報告⁷⁾されているものの中長期の成績は不明である.

これまでに報告された修復不能な広範囲腱板断裂の治療成績で良以上の症例の割合は, デブリードマンが8%と低かったものの, 広背筋移行術は62-67%, パッチ法では65%と本法の55.6%とほぼ同等であった¹⁾²⁾⁴⁾⁹⁾. また, 術後の骨頭上方化の進行は, 他の術式(デブリードマン, 広背筋移行術, パッチ法)では20-50%に認めた¹⁾²⁾⁴⁾⁵⁾⁹⁾のに対し, 本法では66.7%と高率であり, 期待された上腕骨頭上方化の抑制効果は得られていなかった. 術後OA変化に関しては, 他の術式(デブリードマン, 広背筋移行術, パッチ法)で20-42%が進行したのに対し¹⁾²⁾⁴⁾⁵⁾⁹⁾, 本法では83.3%と高率で進行を認め, 残存する腱板筋のみに依存していることおよび本来の筋腱走行が変化したことによるキネマティクスの異常が変形性関節症の進行をきたした原因と考えている.

今後より長期にわたる経過観察が必要であるとともに本法の適応は他の方法が考慮できない場合にすべきと考えられた。

ま と め

18例18肩の修復不能な広範囲腱板断裂に対しPaavolainen法を行った。術後成績は、56%で良以上であったが、不可例も39%で認めた。単純X線正面像で83.3%にOA, 66.7%に骨頭の上方化の進行を認め、さらに長期の経過観察が必要と思われた。

文 献

- 1) Anthony SM, et al: Massive rotator cuff tears: Debridement versus repair. *Orthop Clin North Am*, 1997; 28: 117-124.
- 2) Aoki M, et al: Transfer of latissimus dorsi for irreparable rotator-cuff tears. *J Bone Joint Surg*, 1996; 78-B: 761-766.
- 3) Burkhart SS, et al: Partial repair of massive rotator cuff tears: the evolution of a concept. *Orthop Clin North Am*, 1997; 28: 125-132.
- 4) Gerber C, et al: Latissimus dorsi transfer for the treatment of irreparable rotator cuff tears. *J Bone Joint Surg*, 2006; 88-A: 113-120.
- 5) 仲川喜之ほか: 肩腱板広範囲断裂に対する広背筋移行術の治療成績. *肩関節*, 2000; 24: 479-484.
- 6) 大泉尚美ほか: 腱板腱板広範囲断裂に対する McLaughlin 法の治療成績 - 上腕骨頭頂部に骨溝を作成した症例の検討 -. *肩関節*, 2002; 26: 239-244.
- 7) Paavolainen P, et al: Transfer of the tuberculum majus for massive ruptures of the rotator cuff. *Surgery of the Shoulder*, Mosby-Year Book, Inc, St, Louis, 1990, 252-256.
- 8) 末永直樹ほか: 修復不能な腱板広範囲断裂に対する筋腱移行術. *新 OS NOW*, No20, メジカルビュー社, 2003, 98-108.
- 9) 瀧内敏朗ほか: 肩腱板広範囲断裂に対する広背筋移行術とテフロンパッチ法の手術成績の比較. *肩関節*, 2001; 25: 309-313.
- 10) 竹村通雄ほか: 腱板広範囲断裂に対して骨片付き小円筋移行術 (Paavolainen 法) を行った 3 例. *肩関節*, 2003; 27:263-268.

腱板断裂肩における手術後の肩甲関節窩面の応力分布

北海道大学大学院医学研究科整形外科学分野

久田 幸由・末永 直樹

大泉 尚美・永井 正弘

三浪 明男

The Long-term Stress Distribution at the Glenoid Cavity after a Rotator Cuff Reconstruction using CT Osteoabsorptiometry

by

HISADA Yukiyo, SUENAGA Naoki, OIZUMI Naomi,

NAGAI Masahiro, MINAMI Akio

Department of Orthopaedic Surgery, Hokkaido University School of Medicine

There have been no reports that have analyzed changes of the stress distribution in postoperative glenoid cavity using CTOAM. The aim of this study was to investigate change of long-term stress distribution at the subchondral bone of the glenoid cavity after rotator cuff surgery. 9 shoulders in 8 cases with rotator cuff surgery were investigated pre- and post-operatively using CT osteoabsorptiometry (CTOAM). The average age of the patients was 66.3 years old (range: 45-82). 7 shoulders had anterior acromioplasty with a rotator cuff reconstruction and the remaining 2 shoulders had only anterior acromioplasty. The average duration between pre- and post-CT examination was 70.6 months (range: 39-90). The measured Hounsfield Unit values at the subchondral bone plate were mapped in 256 phases of gray scale using custom-made software. Anterior-superior maximum type was found in 3 glenoids, anterior-superior and posterior type in 4 and central maximum with anterior-superior maximum type in 2 before surgery. After surgery, 6 of 7 shoulders which had received rotator cuff reconstruction revealed an increase of stress distribution at the central area of glenoid. The stress distribution at the subchondral bone of glenoid cavity in patients without rotator cuff reconstruction had not changed. In a rotator cuff tear shoulder, stress was concentrated on the anterior-superior and posterior-superior zone by upward deviation of the head of the humerus. After reconstruction of rotator cuff, long-term mechanical stresses were concentrated into the central region and only anterior acromioplasty did not lead to an antero-superior stress distribution.

Key words : 腱板断裂 (rotator cuff tear), 応力分布 (stress distribution), 肩甲関節窩 (glenoid cavity)

はじめに

肩甲関節窩の応力分布の推測には様々な方法が報告されている。1965年 Pauwels⁷⁾は関節軟骨下骨の骨濃度分布は、長期生体内荷重条件下での関節における応力を反映するとし、この理論に基づいて1989年に Müller-Gerbl⁸⁾はCT Osteoabsorptiometry法(以下CTOAM法)を考案した。これは、CTを用いて関節軟骨下骨の骨濃度を計測することにより、長期生体内荷重条件下での応力分布を生体において推測するというものである。これまで、CTOAM法を用いて腱板断裂肩の烏口肩峰アーチおよび肩甲関節窩における応力分布の報告はあるものの、現在まで手術前後の肩甲関節窩における応力分布の変化を解析した報告はない。

本研究の目的は、CTOAM法を用いて、肩腱板断裂症例の術前・術後の肩甲関節窩の応力分布を解析し比較すること、また、手術術式が術前・術後の応力変化にあたる影響について分析し報告することである。

対象と方法

1996年以降、当科および関連施設で手術を行い、術前および術後3年以上に肩関節のCTを撮影した8例9肩を対象とした(表1)。性別は男性6例、女性2例、手術時平均年齢は66.3歳(45~83歳)であった。腱板の状態を評価するために最終調査時にMRIを撮影した。腱板修復術と肩峰形成術を行った症例は7肩で、その内訳は広範囲断裂2肩、大断裂3肩、小断裂1肩、不全断裂1肩であった。うち1肩は明らかな外傷歴があり、受傷後早期に腱板修復を行った。また不全断裂の2肩には肩峰形成術のみを行った。術後CT撮影までの期間は3年3ヶ月~7年6ヶ月(平均5年11ヵ月)であった。

表1 症例データ

症例	年齢	性別	断裂様式	患側	術式	観察期間	Schulz分類		再断裂
							術前	術後	
1	47	F	大断裂	右	acromioplasty+cuff repair	5y3m	A1	B1	なし
2	82	F	大断裂	右	acromioplasty+cuff repair	6y11m	A0	B1	なし
3	83	F	滑液包側断裂	左	acromioplasty+cuff repair	3y3m	B0	B1	なし
4	68	F	大断裂	左	acromioplasty+cuff repair	7y6m	A1	B1	なし
5	74	M	広範囲断裂	右	acromioplasty+cuff repair	6y2m	A0	B1	あり
6	74	M	広範囲断裂	左	acromioplasty+cuff repair	7y2m	A0	B1	なし
7	80	M	滑液包側断裂	右	acromioplasty+cuff repair	6y4m	A0	B1	なし
8	71	M	関節包側断裂	右	acromioplasty	6y6m	A1	A1	なし
9	45	M	関節包側断裂	右	acromioplasty	3y10m	B0	B0	なし

方法は、ヘリカルCTを用いて肩関節水平断面像をスライス幅、スライス間隔とも1mmで撮像し、そのデータから独自に作成したソフトを用いて肩甲関節窩軟骨下骨のHounsfield Unit値(以下HU値)を1mm間隔で計測する。各スライスにおいて、測定したHU値を256段階のグレースケールで表示した1mm幅のスリットを作成し、それを積み重ねることにより二次元に再構築した(図1)。グレースケールが白に近いほど高HU値、すなわち高応力を表している。

術前後の解析結果における検討項目は以下の2点である。① Schulz分類⁹⁾(図2);グレースケールでマッピングしたHU値を6レベルに分けてカラー表示し、定性的な分布パターンをSchulz分類に基づいて評価した。②各区域におけるグレースケール値の比較;肩甲関節窩の測定範囲を7区域(中央、前上方、前方、

前下方、後上方、後方、後下方)に分割し、画像解析ソフトImage J(the National Institutes of Health 開発)を用いて各区域のグレースケールの平均値を算出した(図3)

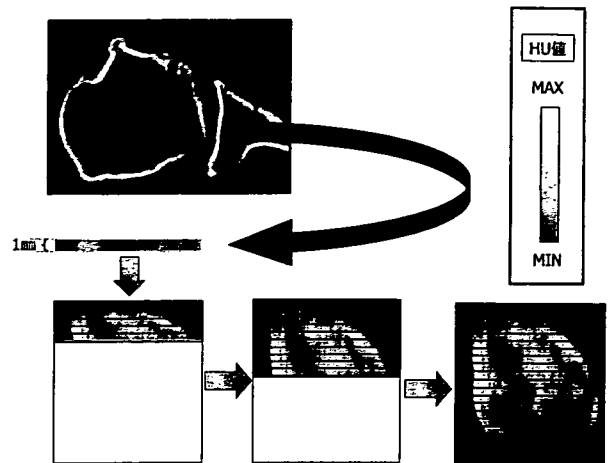


図1 各スライスにおいて、測定したHU値を256段階のグレースケールで表示した1mm幅のスリットを作成し、それを積み重ねることにより二次元に再構築

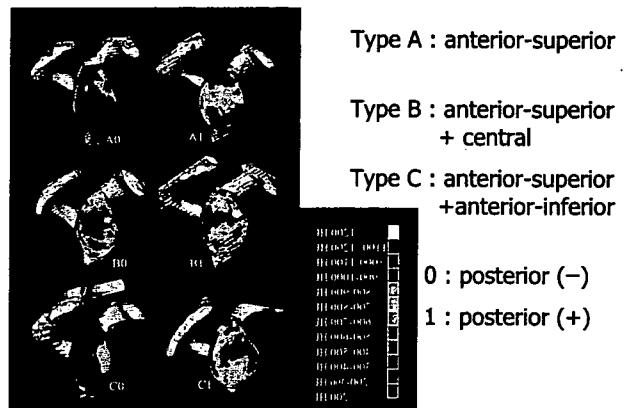


図2 Schulz分類 (J Shoulder Elbow Surg, 2002; 11: 174-181. より引用)

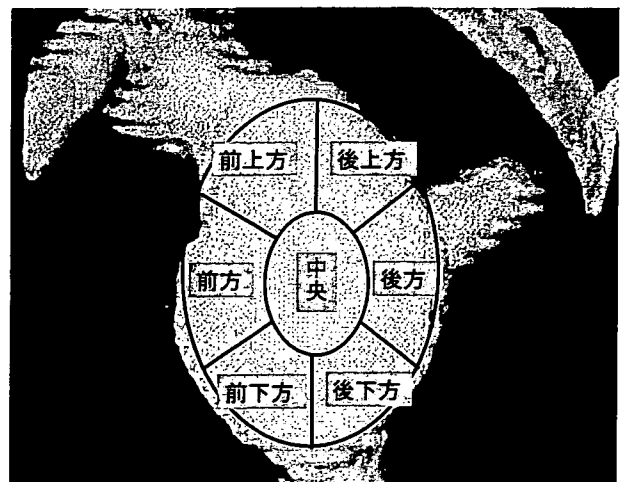


図3 肩甲関節窩の測定範囲を7区域に分割

結 果

最終調査時の MRI にて、広範囲断裂の術後 6 年 2 ヶ月の 1 肩で再断裂を認めた。

① Schulz の分類

腱板修復例は術前 Type A0:2 肩, A1:3 肩, B0:1 肩が、術後調査時は 6 肩全例が前上方+中央+後方に高 HU 値がある Type B1 となり、術前に比較して中央と後方の応力が増加する傾向があった(図 4)。肩峰形成のみの 2 肩では術前、術後とも Type A1 が 1 肩, Type B0 が 1 肩で、応力分布に変化はなかった(図 5)。

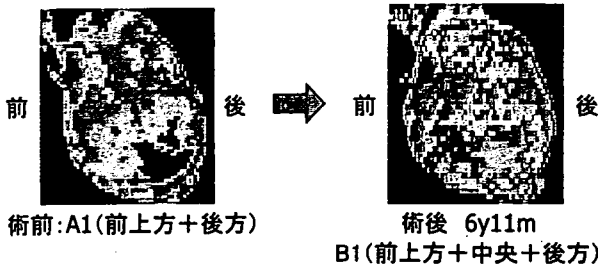


図 4 82 歳女性 大断裂例 腱板修復術施行例 術前、前上方と後方に高 HU 値を示す区域であったものが Type B1 となり、中央への応力が増加した。

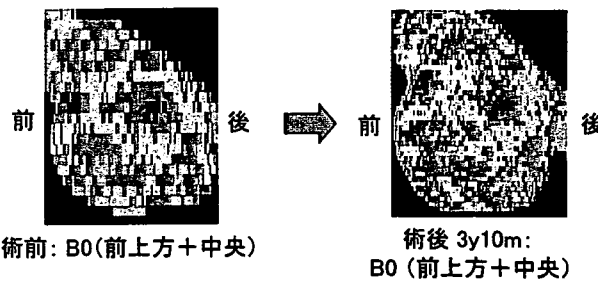


図 5 45 歳男性 不全断裂例 肩峰形成術施行例 応力分布にほぼ変化がなかった。

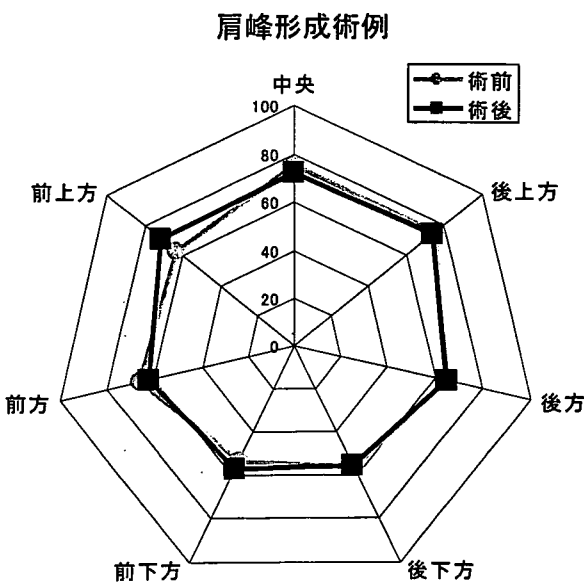


図 6 グレースケール平均値：肩峰形成術例

②各区域におけるグレースケール値の比較

術前後の各区域におけるグレースケール平均値の変化をグラフに示す。肩峰形成術例 2 肩では術前後でグレースケール値に変化はないが(図 6)、再断裂例と早期修復例を除いた腱板修復例 5 肩では、中央から後方の平均値が術後に増加していた。(図 7) 早期腱板修復例では、術前後での変化は認めなかった。再断裂例では後方および後下方の平均値の術後増加を認めた。(図 8)

腱板修復+肩峰形成術例 (大断裂)

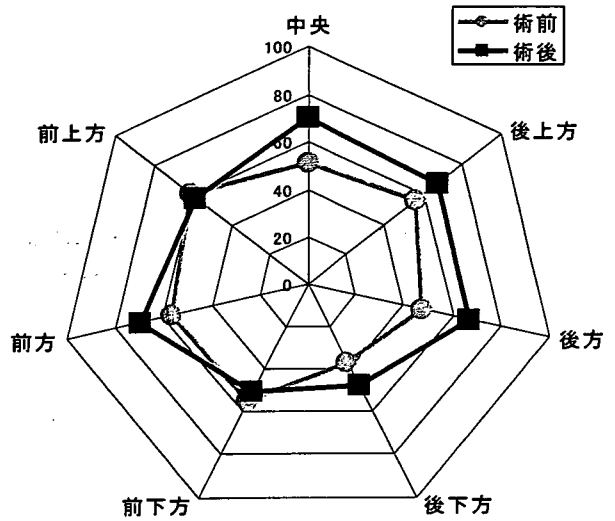


図 7 グレースケール平均値：腱板修復例

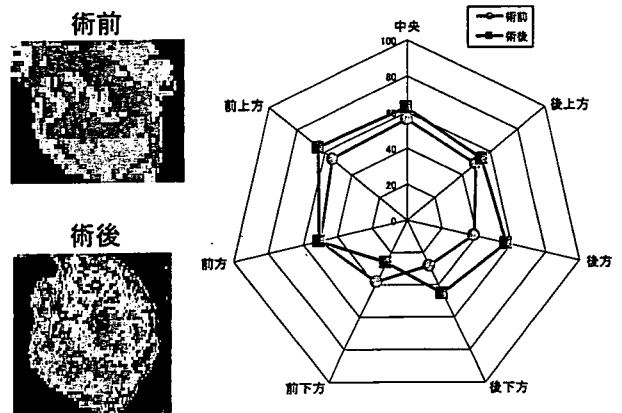


図 8 広範囲断裂に対する腱板修復術施行例で術後 6 年 2 ヶ月の調査時、再断裂が確認された例。分布パターンは術前、前方のみに高 HU 値の領域を認めているが、調査時、中央から後方に向かって高 HU 値の領域を認めたグレースケール平均値：早期腱板修復例

考 察

CTOAM法の利点は、長期にわたる全ての荷重負荷を反映した応力分布を推測することができ、生体において、低侵襲で比較的簡便に解析が可能であることである。これまで当科では岩崎ら¹⁾がKienböck病の橈骨遠位関節面の応力分布に、大泉ら²⁾が腱板損傷肩の烏口肩峰アーチの応力分布にCTOAM法を用いて報告してきた。肩甲関節窩における応力解析への応用としては、当科の永井ら³⁾は、腱板断裂肩では正常に比べて前上方および後上方に応力分布が高くなると報告している。Schulzら⁴⁾は肩甲関節窩軟骨下骨のパターンについて、cadaverの正常44肩を調査し分類を報告した。また、望月ら⁵⁾は投球障害肩について、横矢ら⁶⁾は疾患群における肩甲関節窩の応力分布の相違について報告した。

今回、われわれが調査した症例において、腱板断裂修復例では術後の全例がSchulzの分類で前上方+中央+後方に高HU値があるB1となった。このことから、術前は上腕骨頭の上方向変位により前上方および後上方に応力が集中し、術後は腱板機能が再建されることにより骨頭の求心性が回復し、上方への応力集中が減少し、中央へ応力が分散した可能性が考えられた。また、腱板修復による関節応力の増加を示している可能性もあると考えられた。肩峰形成術例では術前後の応力分布がほぼ変化がないことから、腱板機能が残存していることにより、肩甲関節窩にかかる応力に変化をもたらさなかったことが推測された。また、早期手術例でも術前後の応力分布に変化がなく、腱板断裂が関節応力への影響を与える前に修復を行うことができたためと考えられた。

本研究の問題点としては、術前にCTを本法に必要な条件で撮影したものが少なく、さらに長期経過後に再度CTおよびMRIを撮影する必要があったため、症例数が少ないことが挙げられる。また、手術後どの程度の期間で関節軟骨下骨の骨濃度に変化が現れるかは不明であり、今後経時的な調査および基礎的実験が不可欠である。本研究はpreliminaryなものであるが、手術前後で関節応力に変化が生じることを示した点で価値があると考えている。また今回、独自の解析ソフトを開発することにより、これまでよりも短時間に多くの症例の解析が可能となった。今後さらに症例を蓄積することにより、疾患群や術式による応力変化の比較検討を行う予定である。

ま と め

CTOAM法を用いて、腱板断裂症例の術後の肩甲関節窩の応力分布を術前と比較し、腱板修復および肩峰形成による応力変化を分析した。腱板断裂肩における肩甲関節窩の応力は、腱板修復術を行ったものでは、中央と後方に応力が増加する傾向があった。肩峰形成術のみや、受傷後早期手術例では、術前後の応力変化はなかった。

文 献

- 1) Iwasaki N, et al: Force distribution through the wrist joint in patients with different stages of Kienböck's disease using computed tomography osteoabsorptiometry. J Hand Surg, 2000; 25A: 870-876.
- 2) Mochizuki Y, et al: Changes of the mineralization pattern in

the subchondral bone plate of the glenoid cavity in the shoulder joints of the throwing athletes. J Shoulder Elbow Surg, 2005; 14: 616-619.

- 3) Müller-Gerbl M, et al: Computed tomography-osteosorptiometry for assessing the density distribution of subchondral bone as a measure of long-term mechanical adaptation in individual joints. Skeletal Radiol, 1989; 18: 507-512.
- 4) Müller-Gerbl M: The subchondral bone plate. Adv. Anat-Embryol-Cell-Biol, 1998; 141: 1-134.
- 5) 永井正弘ほか: 腱板断裂肩および外傷性前方不安定症肩における肩甲関節窩の応力分布-CT osteoabsorptiometry法による推測・preliminary study-. 肩関節, 2002; 26: 541-544.
- 6) Oizumi N, et al: Stress distribution patterns at the coracoacromial arch in rotator cuff tear measured by computed tomography osteoabsorptiometry. J Orthop Res, 2003; 21: 393-398.
- 7) Pauwels F: Biomechanics of the locomotorapparatus, Berlin, Springer-Verlag, 1980.
- 8) Schulz C: The mineralization patterns at the subchondral bone plate of the glenoid cavity in healthy shoulders. J Shoulder Elbow Surg, 2002; 11: 174-181.
- 9) 横矢 晋ほか: CT-osteosorptiometry法による軟骨下骨密度分布を指標とした肩甲関節窩応力分布の解析. 肩関節, 2006; 30: 375-378.

新しい直視下および鏡視下腱板縫合法の開発

北海道大学 整形外科

末永直樹・船越忠直

大泉尚美・久田幸由

三浪明男

東北大学 整形外科

佐野博高

斗南病院 スポーツ医療センター整形外科

福田公孝

A Surface-holding Repair Technique of Torn Rotator Cuff - A Biomechanical Study-

by

SUENAGA Naoki, FUNAKOSHI Tadao, OIZUMI Naomi,

HISADA Yukiyoshi, MIMAMI Akio

Department of Orthopaedic Surgery, Hokkaido University School of Medicine,

SANO Hirotaka

Department of Orthopaedic Surgery, Tohoku University School of Medicine,

FUKUDA Kimitaka

Sports Medical Center, Tonan Hospital

A high re-rupture rate after the arthroscopic repair of rotator cuff with large and massive tear were recently reported on MRI study. The objective of this study was to investigate the effectiveness of the new suture technique biomechanically. 18 bovine infraspinatus tendons were repaired to the humerus with 2 suture techniques as follows: A; a dual-row suture technique with four Fastin anchors and tied by using SMC knot, B; knotless suture of the loop from the medially placed 2 Fastin anchors with use of 4 bioknotless anchors C, a pull-out transosseous suture of 8 threads from proximally placed 2 Fastin anchors. The breaking strength, failure mode during tensile testing and the stress distribution immediately after repair of the rotator cuff with these techniques using 3 finite element models were compared. The breaking strength was averaged to 310N in A, 283N in B and 368N in C, respectively. Although a stress concentration was seen around the medial anchor in A, no stress concentration was found inside of the tendon in B or C. A new suture technique could obtain almost the same strength and better stress distribution pattern compared with the dual-row technique.

Key words: 腱板断裂 (Rotator cuff tear), 縫合法 (Suture technique), 生体力学的研究 (Biomechanical study)

はじめに

近年、腱板断裂に対する腱板縫合術後の再断裂率は30～90%と報告¹⁾⁵⁾され、特に大断裂や広範囲断裂においては、その修復の目的を達成することはなかなか困難と考えられている。縫合部の再断裂をきたさないために、強固な縫合法の開発²⁾³⁾⁶⁾やパッチ移植による補強⁴⁾などが行われている一方、成長因子の投与を含めた遺伝子治療の応用が研究されている。成長因子の投与を含めた遺伝子治療の応用は未だ研究段階であり、生体吸収性材料を用いたパッチ移植による補強は欧米で試みられているもの有用との報告はない。現時点で腱板断裂に対する腱板縫合術後の再断裂率を減少させるためには、強固な縫合法の開発や縫合部に負担のかからないリハビリテーションの研究が急務である。

接着面を広くし強固に腱板縫合する方法として、接着面の近位と遠位の2列にスーチャーアンカーを使用して縫合するdual-row縫合法や、接着面の近位にスーチャーアンカーを使用し、遠位は従来の如く骨にプルアウトするbelt & suspender縫合法(図1)が行われるようになってきた。筆者らは1996年から2000年までの間belt & suspender techniqueで縫合してきた。しかし、近位の縫合部で断裂した症例(図2)を経験し、その原因として近位のスーチャーアンカーを用いた縫合部で応力集中が生じたことや遠位でのストレスシールドイングや血行障害の発生が原因として考えられたため2001年より広範囲断裂例において、直視下

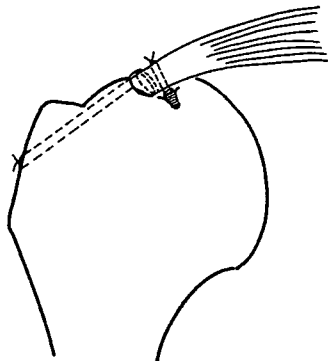


図1 Belt & Suspender法. 近位にスーチャーアンカーをせつちし、接着面を作成しながら外側へ縫合糸を引き出す方法。

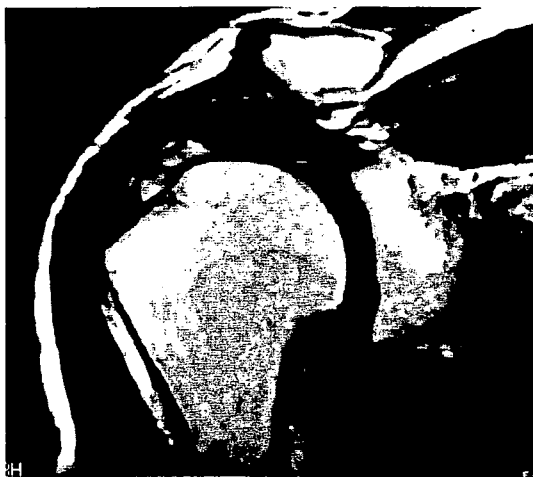


図2 腱板縫合後に近位の縫合部で断裂した症例

もしくは鏡視下にて近位に2-3個のアンカーを設置し、接着面を作成しながら外側へ縫合糸を引き出す方法(Surface-holding repair technique)を開発し施行してきた(図3)。また、より簡潔に鏡視下で行うため新しいアンカーとしてスーチャーアンカーに2本のループを通し近位に設置後、遠位のループをノットレスアンカーで固定する方法(図4)を考案した。本研究の目的はこれらの3つの方法の初期固定力を生体力学的に検討することである。

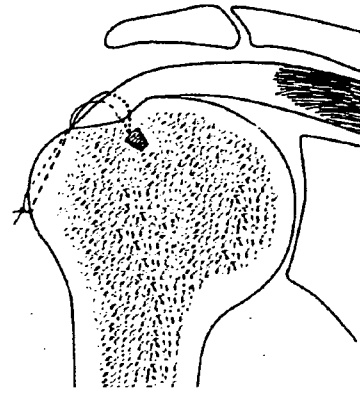


図3 Surface-holding repair法. 接着面の近位に直径5mmのFastinアンカーを用い、2糸を腱板の断端の関節面側より滑液包面へ通し、接着面の遠位は骨へプルアウトする縫合法。

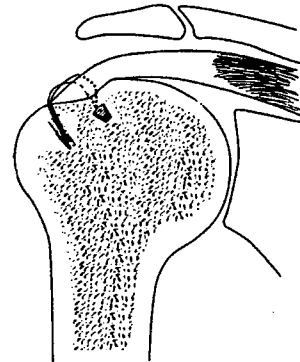


図4 Knotless法. 接着面の近位に2本の1号糸のループのついた直径5mmのFastinアンカーを設置し腱断端の近位に糸を通し、遠位に2個バイオレットレスRCアンカーでループを固定する。

対象と方法

7歳齢の牛の肩18肩の棘下筋腱を使用した。棘下筋腱の厚みは平均8mm、幅は平均約6cmであった。縫合法は、2号非吸収糸が2本ずつついた直径5mmのFastinアンカー(Johnson & Johnson, US)を近位に2個、遠位に2個用い、近位はマットレス縫合、遠位は単純縫合したdual-row縫合法、直径5mmのFastinアンカーに2本の1号ループ糸を通し、接着面の近位に2個設置後、腱断端の関節面側に通し、遠位に4個バイオレットレスRCアンカー(Johnson & Johnson, US)を用いてループを固定する縫合法(以下、knotless縫合法)、接着面の近位に2個の直径5mmのFastinアンカーを用い、8本の糸を腱板の断端の関節面側より滑液包面へ通し、接着面の遠位は骨へプルアウトする縫合法(以

下, Surface-holding repair 法) がそれぞれ 6 肩であった. 糸の縫合の方法は SMC knot[®] を用いて固定した.

生体力学的検討は島津社製の卓上型万能試験機を用い, 10N の前負荷をかけたのち 20mm/min の速度で縫合面とは 45°, 腱には垂直方向に引っ張り試験を行い, その破断様式, 破断強度について調査した.

また縫合法による腱内応力の相違を検討するため汎用有限要素解析用プリポストプロセッサ “MENTAT2003” (MSC Software, Tokyo, Japan) を用いて, 本術式をシミュレートした 2 次元有限要素モデルを作成した. 正常ヒト棘上筋腱—上腕骨の 2 次元有限要素モデル (肩外転角度: 0°)⁹⁾ の形状を改変して棘上筋腱の完全断裂を作成し, 筆者らの手術方法に準じて大結節部に浅い母床をデザインした. 腱断端と海綿骨, 皮質骨, 腱及び関節軟骨の物性定数は, 文献値を参考にして表 1 のように定めた. 腱断端と母床の間には, あらかじめ 0.025mm のギャップを作成しておく, まず腱断端を母床に向かって移動させて接触させ, 縫合糸の通過点に当る 2 箇所の節点を接着させたのち⁹⁾ 次いで, 棘上筋腱近位端に 10N の引っ張り荷重をかけ, 汎用有限要素解析用ソルバー “Marc2003” (MSC Software, Tokyo, Japan) を用いて, 腱内における材料破壊予測の最も有効な指標とされている von Mises 応力の分布を求めた.

破断強度の比較に対する統計学的検討は一元配置分散分析と Fisher の LSD test を用い, 危険率 5% 未満を有意とした.

結 果

破断様式は腱から糸がすり抜けたもの, 糸が断裂したもの, 骨がカットアウトしたもの, およびアンカーが引き抜けたものの 4 つに分かれた (表 2). Dual-row 法で腱から縫合糸がすり抜けた症例が 4 肩で残りの 2 肩は縫合部が破断していた. Knotless 法は腱から縫合糸がすり抜けた症例が 4 肩で残りの 2 肩はバイオノットレス RC アンカーが脱転していた. 一方, Surface-holding repair 法は腱から縫合糸が引き抜けたのは 2 肩, 3 肩で縫合糸が骨をカットアウトし, 残りの 1 肩では Fastin アンカーが脱転していた.

破断強度では dual-row 法で平均 310N, knotless 法で 283N,

表 1 各組織の物性定数の推測値

	Young's modulus (MPa)	Poisson's ratio
棘上筋腱	168	0.497
関節軟骨	35	0.450
海綿骨	1380	0.300
軟骨下骨	2780	0.300
皮質骨	13800	0.300

表 2

	Dual-row法	Knotless法	Surface-holding repair法
腱から縫合糸がすり抜ける	4	4	2
縫合糸の破綻	2		
骨をカットアウト			3
アンカーが脱転		2	1

Surface-holding repair 法で 368N と Surface-holding repair 法で強い傾向があるものの dual-row 法と新しい 2 つの方法では統計学的有意差は認めなかった (図 5).

2 次元有限要素モデルを用いた本術式後における応力解析では, 棘上筋腱修復部の応力分布は dual-row 法では近位アンカー縫合部に強い応力集中が認められ, その遠位では応力が極端に少なかったのに比較し, knotless 法および Surface-holding repair 法をシミュレーションさせたモデルでは縫合部腱内の応力分布は比較的均一であり, 明らかな応力集中は見られなかった. (図 6-A,B)

考 察

腱板縫合後の初期固定強度を生体力学的に検討した報告は散見される. Reeds ら⁹⁾ はスーチャーアンカー法と骨にプルアウトする方法を比較した結果, スーチャーアンカー法の方が従来の骨にプルアウトする方法よりも強固であると報告している. Waltlip ら¹⁰⁾ も同様に 1 列のスーチャーアンカーを使用し縫合する single-row 法と骨にプルアウトする方法では single-row 法の方が,

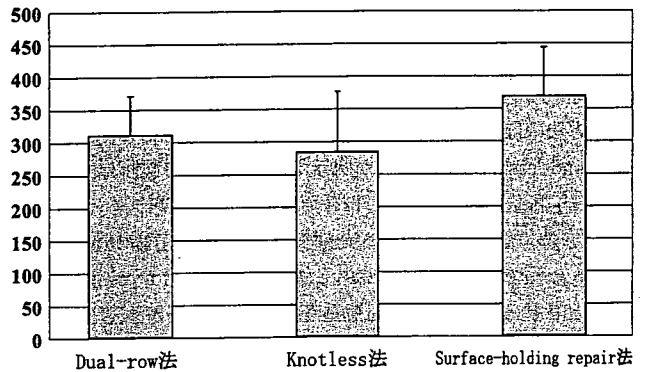


図 5 破断強度を示す. Dual-row 法で平均 310N, knotless 法で 283N, Surface-holding repair 法で 368N と Surface-holding repair 法で強い傾向があるものの dual-row 法と新しい 2 つの方法では統計学的有意差は認めなかった.



図 6-A 2 次元有限要素モデルを用いた腱骨縫合部および腱内応力解析. Dual-row 法では近位アンカー縫合部に強い灰色で示す応力集中が認められ, その遠位では青で示されるよう応力は非常に少なかった.

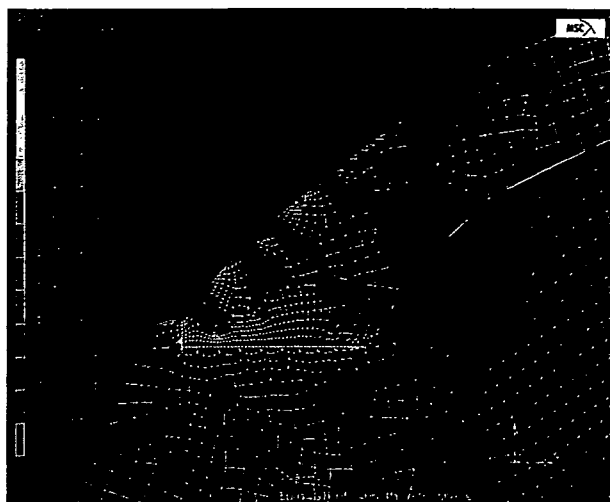


図6-B Knotless法およびSurface-holding repair法では比較的均一であり、明らかな応力集中は見られなかった。

belt & suspender縫合法とsingle-row法では、belt & suspender縫合法の方が強固であることを報告している。またKimら⁹⁾はdual-row法とsingle-row法を比較し、dual-row法はさらに強いことを報告している。つまり現在臨床応用されている縫合法のうちdual-row法は最強の縫合法であるといえる。本研究結果では3種の方法はほぼ同等の初期固定力が認められたものの、dual-row法とknotless法では腱の質が関与すると思われる破断様式が多く、Surface-holding repair法では骨の質に関与すると思われる破断様式が多く認められた。また腱修復部の応力分布の結果からdual-row法では近位の2個のスーチャーアンカーで水平マットレス縫合されるため引っ張り荷重が集中し腱断裂が生じやすく、knotless法では4本のループに応力が集中するため腱と糸との間で断裂が生じたことが原因と推察された。Surface-holding repair法ではdual-row法と比較し、近位での水平マットレス縫合がなく、腱との把持力の少ない単純縫合であるものの合計8本の糸に引っ張り荷重が分散されたため腱と糸との間の応力が相対的に減少したためと考えられた。腱との把持力を増強させるためMason-Allen法などの縫合技術を駆使することはかえって腱縫合部での断裂の原因となり、より多くの糸を単純縫合で使用して腱修復部の応力を均一化するとともに糸1本と腱の間に加わる荷重を減少させることが腱縫合後の術後再断裂率を減少させるため有用と思われた。

Surface-holding repair法で骨から縫合糸のカットアウトが生じた点に関しては骨粗しょう症を伴う症例で大きな問題となる。この問題に対しては、縫合糸の間隔を広くとることや薄いボタンを縫合部に使用し面で縫合糸の応力を大結節部に伝えることでより改善できると考えている。

アンカーの費用を現在の価格で換算するとdual-row法で19万円、knotless法で35万1800円、Surface-holding repair法で9万5千円とSurface-holding repair法で低額で、knotless法で高額であり、医療費を少なくするためにもSurface-holding repair法は有用と思われた。

本研究の問題点としてヒトの肩の腱と骨と質の異なる牛を使用したことがある。しかしながら、実験的研究を行う場合に比

較的均一の腱および骨の質を得るためには有用であり、5cm以上の広範囲腱板断裂を模すためには牛の棘下筋腱は最適であると考えている。また術後早期運動における再断裂を想定した場合には、cyclic testによる腱骨修復部のギャップの形成を検討するほうが望ましい。また関節鏡下縫合に有用かどうかは関節鏡視下で縫合した方がより適当であることなどがあり、今後の研究課題と考えている。

ま と め

新しく開発した縫合法の初期固定力をdual-row法と比較した。Surface-holding repair法ではdual-row法とほぼ同様の初期固定力が得られていた。腱修復部の応力分布ではdual-row法では近位アンカー縫合部に強い応力集中が認められたのに比較し、knotless法およびSurface-holding repair法では強い応力集中は認められず、比較的均一な応力分布が得られていた。

【謝辞】

この研究に際し、有限要素解析を行って頂いた東北大学シナジーセンターおよびスーチャーアンカーを寄与して頂いたJohnson & Johnson companyに感謝する。

文 献

- 1) Galatz LM, et al: The outcome and repair integrity of completely arthroscopically repaired large and massive rotator cuff tears. *J Bone Joint Surg Am*, 2004; 86-A: 219-224.
- 2) Gerber C, et al: Experimental rotator cuff repair: A preliminary study. *J Bone Joint Surg Am*, 1999; 81: 1281-1290.
- 3) Kim DH, et al: Biomechanical comparison of a single-row versus double-row suture anchor technique for rotator cuff repair. *Am J Sports Med*, 2006; 34: 407-414.
- 4) Kim SH, et al: The SMC knot: a new slip knot with locking mechanism. *Arthroscopy*, 2000; 16: 563-565.
- 5) Klepps S, et al: Prospective evaluation of the effect of rotator cuff integrity on the outcome of open rotator cuff repairs. *Am J Sports Med*, 2004; 32: 1716-1722.
- 6) Reed SC, et al: Full thickness rotator cuff tears: A biomechanical comparison of suture versus bone anchor technique. *Am J Sports Med*, 1996; 24: 46-48.
- 7) Sano H, et al: Stress distribution in the supraspinatus tendon after the tendon repair: Suture anchors versus transosseous suture fixation. *Am J Sports Med*, 2007; 35: 542-546.
- 8) Scamberg SG, et al: Six-month magnetic resonance imaging follow-up of large and massive rotator cuff repairs reinforced with porcine small intestinal submucosa. *J Shoulder Elbow Surg*, 2004; 13: 538-541.
- 9) Wakabayashi I, et al: Mechanical environment of the supraspinatus tendon: A two-dimensional finite element model analysis. *J Shoulder Elbow Surg*, 2003; 12: 612-617.
- 10) Waltrip RL, et al: Rotator cuff repair: A biomechanical comparison of three techniques. *Am J Sports Med*, 2003; 31: 493-497.

Effect of pore size on *in vitro* cartilage formation using chitosan-based hyaluronic acid hybrid polymer fibers

Shintaro Yamane,^{1,2} Norimasa Iwasaki,^{1,2} Yasuhiko Kasahara,^{1,2} Kazuo Harada,³ Tokifumi Majima,^{1,2} Kenji Monde,^{2,4} Shin-ichiro Nishimura,^{2,4} Akio Minami^{1,2}

¹Department of Orthopaedic Surgery, Hokkaido University School of Medicine, Sapporo, Japan

²Frontier Research Center for Post-genomic Science and Technology, Hokkaido University, Sapporo, Japan

³Chemical Biology Institute, Sapporo, Japan

⁴Laboratory of Bio-Macromolecular Chemistry, Division of Biological Sciences, Graduate School of Science, Hokkaido University, Sapporo, Japan

Received 24 February 2006; revised 10 August 2006; accepted 28 August 2006

Published online 19 December 2006 in Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com). DOI: 10.1002/jbm.a.31095

Abstract: In this study, we successfully developed three-dimensional scaffolds fabricated from the chitosan-based hyaluronic acid hybrid polymer fibers, which can control the porous structure. To determine the adequate pore size for enhancing the chondrogenesis of cultured cells, we compared the behaviors of rabbit chondrocytes in scaffolds comprising different pore sizes (100, 200, and 400 μm pore size). Regarding the cell proliferation, there was no significant difference among the three groups. On the other hand, glycosaminoglycan contents in the 400 μm group significantly increased during the culture period, compared with those in the other groups. The ratio of type II to type I collagen mRNA level was also significantly higher in the 400 μm group than in the other groups. These results indicate that

our scaffold with 400 μm pore size significantly enhances the extracellular matrix synthesis by chondrocytes. Additionally, the current scaffolds showed high mechanical properties, compared with liquid and gel materials. The data derived from this study suggest great promise for the future of a novel fabricated material with relatively large pore size as a scaffold for cartilage regeneration. The biological and mechanical advantages presented here will make it possible to apply our scaffold to relatively wide cartilaginous lesions. © 2006 Wiley Periodicals, Inc. *J Biomed Mater Res* 81A: 586–593, 2007

Key words: chitosan; chondrocyte; hyaluronic acid/hyaluronan; cell culture; scaffold

INTRODUCTION

Functional restoration of diseased and damaged articular cartilage is highly desirable, yet it continues to remain medically challenging. The clinical treatment outcomes intended to promote complete repair of full and partial-thickness articular cartilage defects essentially remain unpredictable. Tissue engineering is considered to be one of the most promising alter-

native therapies for articular cartilage defects.^{1–4} For the approach of tissue engineering, a temporary three-dimensional (3-D) porous scaffold is necessary to accommodate the transplanted cells and guide the new tissue formation. Especially, in cartilage tissue engineering, scaffolds play an important role in maintaining the phenotype of chondrocyte.^{5,6} Factors that could enhance tissue regeneration include various characteristics such as pore size, total porosity, pore shape, pore interconnectivity, material surface chemistry, effective scaffold degradability, and scaffold stiffness. Articular cartilage must be considered as a mechanically stressed tissue. Therefore, the fundamental structure of a scaffold should be a 3-D system with adequate mechanical strength to fix to the injured site *in vivo*.

We previously showed the biological superiority of chitosan-based hyaluronic acid hybrid polymer fibers in *ex vivo* cartilage regeneration.⁷ Our novel hybrid fibers have several advantages. By introducing hyaluronic acid to the chitosan material, cell pro-

Correspondence to: N. Iwasaki; e-mail: niwasaki@med.hokudai.ac.jp

Contract grant sponsor: Hokkaido Bureau of Economy, Trade and Industry

Contract grant sponsor: Northern Advancement Center for Science & Technology in Hokkaido

Contract grant sponsor: Japan Society for the Promotion of Science; contract grant number: B-1539044

Contract grant sponsor: Regional Consortium Research Development Work

© 2006 Wiley Periodicals, Inc.

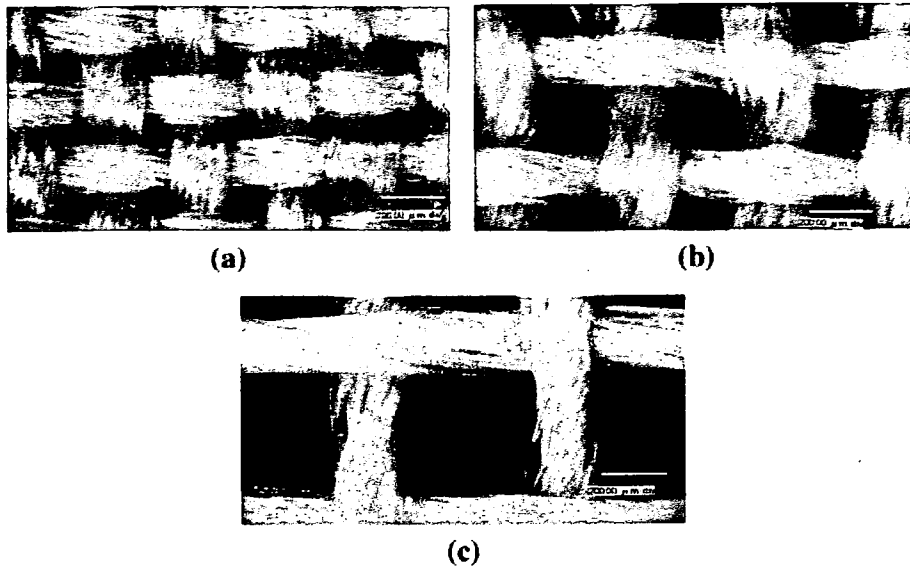


Figure 1. Microscopic appearance of 3-D fabricated scaffolds: (A) 100 μm pore size scaffold, (B) 200 μm pore size scaffold, and (C) 400 μm pore size scaffold.

liferation and extra cellular matrix (ECM) synthesis were enhanced. Structurally, the fiber material must provide adequate mechanical strength for a 3-D scaffold of cartilage tissue engineering.⁸ In addition, by using fiber material, it becomes easy to control the macroscopic and microscopic scaffold architectures. The next step in developing a novel material is to conduct more research to determine the adequate shape and pore size that enhances the chondrogenesis of cultured cells and achieves an adequate mechanical strength for a 3-D cartilage tissue regeneration scaffold.

The aims of this study were to create the 3-D fabricated scaffolds based on the chitosan-based hyaluronic acid hybrid polymer fibers, which can control the porous structure, and to clarify the effects of pore size of the current scaffolds on the chondrocyte behaviors and scaffold's mechanical properties. On the basis of the study's results we can prepare an appropriate scaffold for cartilage tissue engineering.

MATERIALS AND METHODS

Scaffold preparation

Chitosan-based hyaluronic acid hybrid polymer fibers, which are coated with 0.07% hyaluronic acid, were originally developed in our laboratory by the wet spinning method.⁷ The concentration of hyaluronic acid was determined by the data previously obtained.⁷ Chitosan is a commercial material purchased from Kimitu Chemical Co., Inc. (Tokyo, Japan). Hyaluronic acid, produced by lactic acid bacteria with a viscosity average molecular weight of

2,400,000, was given as a gift from Denki Kagaku Kogyo Co. Ltd. (Tokyo, Japan). The degree of deacetylation of the chitosan was 81%, and viscosity average molecular weight was 600,000. The diameter of the hybrid polymer fiber was 0.03 mm. As mentioned in the previous literature,⁷ the tensile strength and strain at failure of the polymer fiber was 144.4 N/mm² and 9.7%, respectively. First, yarns were created from the hybrid polymer fibers. Then, the 3-D scaffolds with three different pore sizes (100, 200, and 400 μm) were woven automatically from the yarns by using the original apparatus [Fig. 1(A–C)]. Each scaffold was 8 \times 8 mm with a 1 mm thickness (Fig. 2). These scaffolds

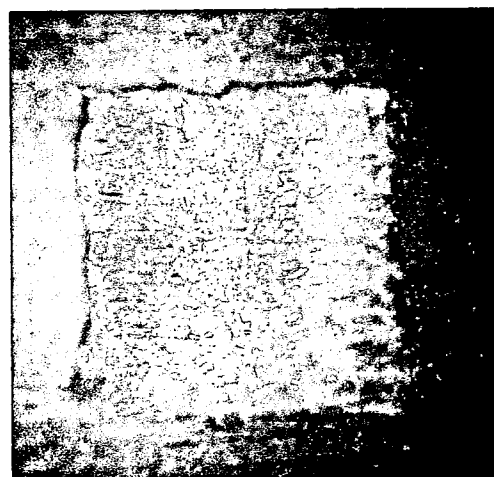


Figure 2. Macroscopic appearance of 3-D fabricated scaffolds with 400 μm pore size (8 \times 8 mm and 1 mm thickness). [Color figure can be viewed in the online issue, which is available at www.interscience.wiley.com.]

were sterilized in an autoclave at 135°C for 20 min for the chondrocyte culture and further investigations.

Chondrocyte isolation

Ten-week-old Japanese white rabbits (Hokudo, Sapporo, Japan) were used in this study. Articular cartilage slices, gathered from the femoral condyle, the femoral head, and the humeral head of the animals, were detached from the adherent connective tissues. Chondrocytes were isolated by sequential enzyme digestion under sterile condition as described previously.⁷ Isolated viable chondrocytes were counted using a hemocytometer and 0.4% trypan blue exclusion dye. The final cell density of chondrocyte suspension was adjusted for further investigations. Dulbecco's modified Eagle's medium containing 4500 mg/L glucose (Sigma, St. Louis, MO) supplemented with 10% fetal bovine serum (Invitrogen, Carlsbad, CA), 100 IU/mL penicillin, 100 µg/mL streptomycin, and 0.25 µg/mL fungizone (Biowhittaker, Walkersville, MD) was used for the culture medium.

Cell adhesion study

The chondrocyte suspension containing 0.6×10^6 cells was embedded on the scaffold. The scaffold was placed in a culture dish and allowed to attach for 1 h in an incubator before additional medium was added. Next, the samples were cultured for 24 h in an incubator supplemented with 5% CO₂ and 95% humidity at 37°C. The unattached cells were collected from the medium and culture dish at 24 h after cell seeding. The number of unattached cells was quantified by microscopic observation using a hemocytometer.

In vitro chondrocyte culture

A chondrocyte suspension containing 0.6×10^6 cells was embedded on the scaffolds. The samples were cultured in a humidified 5% CO₂ incubator at 37°C in static conditions. The culture medium was changed every three days and fresh ascorbic acid (50 µg/mL final concentration) (Sigma) was added each time.

DNA quantification

At 1, 7, 14, and 28 days after cultivation, samples of each sample group (100 µm, 200 µm, and 400 µm pore size) were harvested to quantify the total amount of DNA. The DNA content (µg/sample) was measured in aliquots of the sodium citrate (0.05M phosphoric acid, 2M NaCl) dissolved powdered samples by modified fluorometric assay using bisbenzimidazole dye (Hoechst dye 33258, Polyscience, Warrington, PA).⁹ In fluorescence measurements, disposable cuvettes were used; the excitation wavelength was 356 nm and the emission wavelength was 458 nm. The results were extrapolated from a standard curve using salmon testis DNA (Worthington, Freehold, NJ).

RNA isolation and semiquantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) analysis

RNA was extracted from samples incubated for 28 days with the TRIspin method as described previously.⁷ Semiquantitative RT-PCR analysis was performed with rabbit-specific primer sets for type I, II collagen, aggrecan, and a housekeeping gene, glyceraldehydes-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH). Data were expressed as a normalized ratio by comparing the integrated density values for the genes in question with these values for GAPDH so as to yield a semiquantitative assessment of gene expression.

Quantization of glycosaminoglycans

At 1, 7, 14, and 28 days after cultivation, samples of each group were harvested to quantify the total amount of sulfated glycosaminoglycans (GAG). The amounts of GAG in the cultured samples were measured by dimethylmethylene blue assay described by Farndale et al.¹⁰ The sample in 1.0 mL 20 mM sodium phosphate buffer (pH 6.8) containing 1 mM EDTA, 2 mM dithiothreitol, and 300 µg papain, was incubated at 60°C for 60 min. Iodoacetic acid was then added to 10 mM final concentration, and the volume was increased to 5 mL by addition of 50 mM Tris/HCl (pH 8.0). 100 µL of each sample was placed in a polystyrene tube and 2.5 mL dimethylmethylene blue color reagent was added. In spectrophotometric measurements, disposable cuvettes were used; the wavelength was 525 nm. The results were extrapolated from a standard curve using chondroitin sulfate (Hokudo, Sapporo, Japan).

Morphological and immunohistochemical analysis

Cell morphology in the scaffold material was observed by light microscopy at 28 days after cultivation. Cultured samples were fixed with 10% buffered formalin, embedded in paraffin, cut into 5-µm sections, and stained with Safranin-O. For immunohistochemical observation, the samples were embedded in Tissue-Tek OCT compound (Sakura Finetechnical, Tokyo, Japan) and frozen. Frozen sections (5 µm thickness) were cut and mounted on microscope slides. Then, the sections were thawed and fixed with acetone for 5 min at -20°C. After drying, the sections were hydrated with phosphate-buffered saline for 5 min. They were incubated with the primary antibody—mouse monoclonal antibodies to either human collagen type I (1:100) or type II (1:100)—for 60 min at room temperature. They were washed three times and incubated with a peroxidase-labeled polymer-conjugated anti-antibody (Envision System, Dako, CA) for 60 min. The reaction was developed with a 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride solution (DAB, Sigma Chemical, St Louis, MO). The antibody we used for type I collagen was anti human type I collagen mouse monoclonal antibody (clone I-8H5, immunoglobulin G2a) (Fuji-Chemicals, Takaoka, Japan) and for type II collagen was anti human type II collagen mouse monoclonal antibody (clone II-4C11, immunoglobulin G1) (Fuji-Chemi-

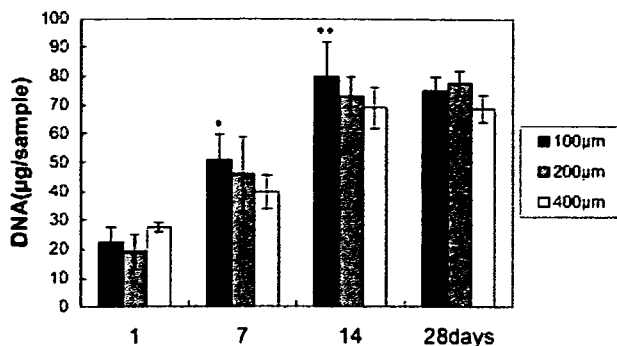


Figure 3. Increase of DNA content per sample ($\mu\text{g}/\text{sample}$) in 3-D fabricated scaffolds seeded with chondrocytes ($n = 5$ in each group). * $p < 0.05$, vs. the 400 μm group at 7 days after cultivation; ** $p < 0.05$, vs. the 400 μm group at 14 days after cultivation.

cals, Takaoka, Japan). Cross reactivity to rabbit was confirmed by the company.

Mechanical analysis of cultured samples

At 28 days after cultivation, samples seeded with and without chondrocytes of each group were harvested to quantify the mechanical properties. The mechanical properties of the samples were measured by the axial compression test equipment designed by our laboratory for small samples, which was attached in a material testing machine (Shimadzu, Kyoto, Japan). A rod with a hemispherical shape (2.5 mm in diameter) tip was vertically lowered at a crosshead speed of 10 mm/min on the sample placed on a grid. The stress-strain curves were obtained from both the cultured samples and sliced normal articular cartilage harvested from rabbit humeral head as a control. The compression modulus was obtained from the initial slopes of the stress-strain curves.

Statistical analysis

The means and standard deviations for all results were calculated from five samples. Statistical comparisons of the compression modulus of each scaffold between with and without chondrocytes were performed using unpaired *t* tests. One-way ANOVA and Fisher's PLSD tests were performed for other comparisons. Differences were considered significant for $p < 0.05$.

RESULTS

Cell adhesion

The average efficiency of cell attachment was $93.2 \pm 3.6\%$, $89.6 \pm 4.7\%$, and $78.2 \pm 3.5\%$ in the 100 μm , 200 μm , and 400 μm group, respectively. The value of the 100 μm and 200 μm groups were significantly

higher than that of the 400 μm group (100 μm vs. 400 μm group, $p < 0.001$; 200 μm vs. 400 μm group, $p < 0.01$).

Cell proliferation

In all the groups, the total amount of DNA increased with time until day 14 and then there were no significant changes in the values from 14 days to 28 days. At 7 and 14 days of culture, the amount of DNA was significantly higher in the 100 μm group than in the 400 μm group ($p < 0.05$). However, there was no significant difference among the three groups at 28 days of culture (Fig. 3).

The light micrograph showed the proliferation of the chondrocyte while maintaining the characteristic round morphology and the rich ECM synthesis around the chondrocytes in all groups at 28 days after cultivation (Fig. 4).

ECM products

At 28 days after cultivation, the quantity of total RNA yield per mg wet weight was $0.27 \pm 0.08 \mu\text{g}/\text{mg}$ in the 100 μm group, $0.15 \pm 0.07 \mu\text{g}/\text{mg}$ in the 200 μm group, and $0.36 \pm 0.10 \mu\text{g}/\text{mg}$ in the 400 μm group. The mRNA for GAPDH was well expressed in all samples. Based on the analysis of 1 μg of total RNA converted to cDNA by RT from each sample, integrated density values of GAPDH in the linear PCR range (25 cycles) in the 100 μm group, in the 200 μm group, and in the 400 μm group were 0.43 ± 0.03 , 0.44 ± 0.04 , and 0.44 ± 0.03 integrated density units, respectively. There were no significant differences in GAPDH band density among the three groups. These results support the normalization of

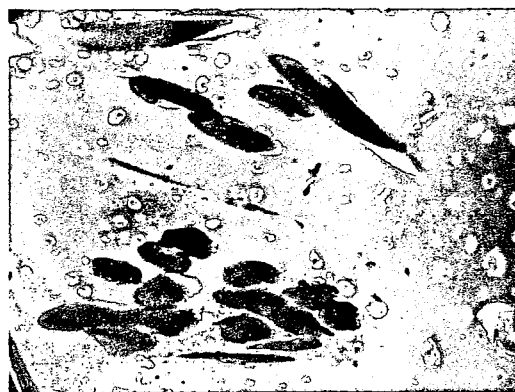


Figure 4. Light micrograph of chondrocytes proliferated in 3-D fabricated scaffold with 400 μm pore size at 28 days after cultivation (Safranin-O staining, original magnification $\times 20$). [Color figure can be viewed in the online issue, which is available at www.interscience.wiley.com.]

TABLE I
Mean Normalized Ratio (Experimental Integrated Density/GAPDH Integrated Density) of mRNA
for ECM Molecules at 28 Days After Cultivation

Group	Type II Collagen	Aggrecan	Type I Collagen	Type II/I Collagen
100 μm	0.66 \pm 0.08	0.79 \pm 0.05	0.61 \pm 0.11	1.12 \pm 0.35
200 μm	0.67 \pm 0.13	0.64 \pm 0.14	0.44 \pm 0.10	1.63 \pm 0.48
400 μm	0.79 \pm 0.08	0.67 \pm 0.16	0.46 \pm 0.19	1.95 \pm 0.78*

Mean \pm standard deviation.

$n = 5$ in each group.

* $p < 0.05$, vs. the 100 μm group.

subsequent assessments to this gene. In culture materials at 28 days, normalized ratio of mRNA of type I collagen, of type II collagen, and of aggrecan to that of GAPDH was summarized in Table I. In each value, there were no statistically significant differences among the three groups. On the other hand, the ratio of type II to type I collagen (type II/I) mRNA levels of the 400 μm group significantly increased, compared with that of the 100 μm group ($p < 0.05$).

In the quantification of GAG, the total amount of GAG increased constantly with time in all groups. At 14 days after cultivation, the GAG content was significantly higher in the 200 and 400 μm groups than in the 100 μm group ($p < 0.05$). Moreover, at 28 days after cultivation, the value of the 400 μm group significantly increased, compared with other groups (Fig. 5; vs. the 100 μm group, $p < 0.0001$; vs. the 200 μm group, $p < 0.01$).

Immunohistochemical staining with an anti-type II collagen antibody demonstrated rich type II collagen production in the pericellular matrix [Fig. 6(A)]. In contrast, that with anti-type I collagen suggested poor synthesis of type I collagen in the matrix [Fig. 6(B)].

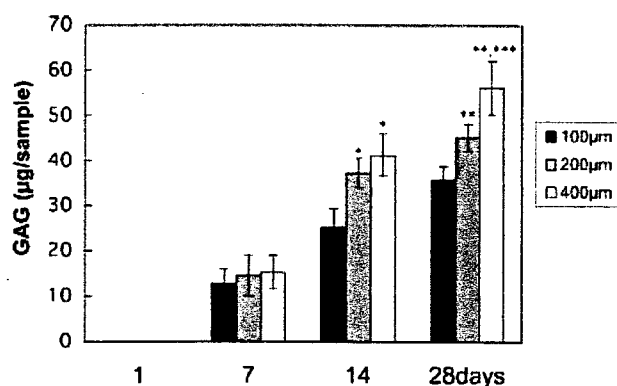


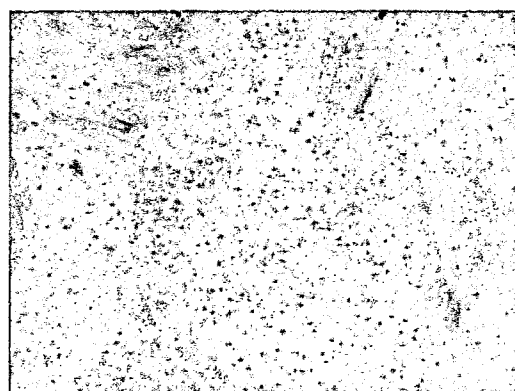
Figure 5. Glycosaminoglycans content increases in all sample groups ($n = 5$ in each group). The value is significantly higher in the 400 μm group than in the other groups at 28 days after cultivation. * $p < 0.05$, vs. the 100 μm group at 14 days after cultivation; ** $p < 0.05$, vs. the 100 μm group at 28 days after cultivation, *** $p < 0.05$ vs. the 200 μm group at 28 days after cultivation.

Mechanical analysis of cultured samples

The compression modulus of normal articular cartilage of rabbits was 3.28 ± 0.53 MPa. The value of scaffolds without chondrocytes was 5.93 ± 1.36 MPa in the 100 μm group, 1.63 ± 0.97 MPa in the 200 μm group, and 0.87 ± 0.28 MPa in the 400 μm group. There were significant differences in the values between the 100 μm group and the other groups ($p <$



(a)



(b)

Figure 6. Immunohistochemical staining of 3-D fabricated scaffold with 400 μm pore size at 28 days after cultivation (original magnification $\times 10$). A: Rich production of type II collagen is indicated. B: No staining of type I collagen is observed. [Color figure can be viewed in the online issue, which is available at www.interscience.wiley.com.]