

第26回 日本運動器移植・再生医学研究会

日 時：2007年10月27日(土)  
会 場：アクトシティ浜松  
会 長：四宮謙一（東京医科歯科大学大学院整形外科学分野）

2008・4 発行  
移 植 (Vol.43 No.2)  
＜日本移植学会雑誌＞  
別 刷

線維束間に多数認められた。膠原線維の構造には変化を認めなかった。加温群の膠原線維は破壊されていた。冷凍しても腱の力学的特性が保持されるメカニズムとしては冷凍保存による氷晶形成は膠原線維間質に生じ、膠原線維実質の構造には変化を与えないことが考えられた。今回の実験条件では加温は保存帯の処理には適切ではないことが分かった。

## 20 BMPを用いた骨と靭帯結合部（エンテシス）の再生とその臨床応用の可能性

<sup>1</sup>大阪市立大学医学部整形外科教室、

<sup>2</sup>島田病院整形外科、

<sup>3</sup>大阪市立総合医療センター整形外科

橋本祐介<sup>1</sup>・吉田 玄<sup>1</sup>・豊田宏光<sup>1</sup>・仲 哲史<sup>1</sup>・高岡邦夫<sup>1</sup>

【目的】われわれは、rhBMPを用いてenthesi 4層構造の再生に成功し、その臨床応用の可能性を報告する。

【方法】家兎アキレス腱にrhBMP (15 ug) を注入した。術後経時的にX-P, DEXA, H-E, アルシアンブルー、フォンコッサ染色を行った。また(A) BMPと(B) PBS注入後4週アキレス腱を脛骨近位の骨孔に挿入した。4週間後、X-P, CT, 引っ張り強度を計測した。

【結果】X-P, 2週で石灰化が出現、DEXAで2週から経時的増加が見られた。組織2週で繊維内に卵形細胞が出現し、アルシアンブルー陽性を示した。4週でフォンコッサ陽性領域が拡大し、内軟骨性骨化様骨形成が見られた。腱骨間に繊維連続性が見られ、4層構造と考えた。力学的にA群はB群と比し有意に高値を示した。

【結論】BMPを用いて正常に類似した骨髄靭帯移行部の再生が可能であった。

以上から、前十字靭帯再建モデルを作成したので紹介する。

## 21 非生体ドナーからの組織採取・処理・保存にかかる費用の検討

<sup>1</sup>北里大学医学部整形外科、<sup>2</sup>北里大学病院骨バンク

占部 憲<sup>1,2</sup>・成瀬康治<sup>1,2</sup>・池邊謙誠<sup>1</sup>・内山勝文<sup>1,2</sup>・

糸満盛憲<sup>1,2</sup>

【目的】非生体ドナーから採取される組織の費用を明らかにし、今後の非生体ドナーからの組織採取体制について検討した。

【方法】採取・処理・保存にかかる費用は、医療機器使用料、医療機器以外の機器使用料、機器メンテナンス料、人件費、医療材料医薬品等の費用、医療材料以外の消耗品の費用、およびその他の費用から算出した。当施設で年間7回採取を行い25回の組織移植術を行うと仮定し、1回の費用を算出した。

【結果】1回の組織移植術にかかる組織の採取・処理・保存の費用は298,176円であった。

【考察】本先進医療の問題点として、①移植組織の量にかかわらず同一の費用しか請求できない、②シッピングされた組織は対象とならない、③申請には認定組織バンクである必要がある、という点があげられる。そこで現在活動している2つの地域骨バンクが中心となり、組織採取と処理・保存を分けて行うシステムを確立する必要があると思われる。

## 22 東海骨バンクの15年実績

<sup>1</sup>東海骨バンク、<sup>2</sup>はちや整形外科病院

井澤浩之<sup>1</sup>・蜂谷裕道<sup>2</sup>・成田泰詞<sup>2</sup>・酒井 孝<sup>1</sup>

われわれは日本初の地域骨銀行として1992年より愛知県下で組織的に活動を開始した。1992年から2006年までの骨提供者数は愛知、岐阜、静岡、三重の4県19施設から106件あり、その内訳は男性69件、女性37件であった。提供時年齢は16～89歳であった。保存骨供給症例は1,634件に及び、その47.6%を占めた脊椎固定術が最も多く、次いで人工股関節置換術、膝前十字靭帯再建術であった。経時的には2000年から2003年にかけては減少したが、2004年以降再度増加していた。所属内施設への供給を原則としているが、人道的見地より全国の所属外施設へも23件の供給を行った。最近living donorからの提供が難しく、1 donorからの作成数も限られているcortical ringの依頼が増加している。今後、地域組織銀行として製品ごとのbalanceが重要になるとと思われる。

## 23 PLIFに使用した同種皮質骨のリモデリング

はちや整形外科病院

蜂谷裕道・村田英明・村松幸一・鬼武宏行

【目的】PLIFに使用した同種皮質骨のremodelingについての報告はきわめて少ない。今回PLIFに使用した同種皮質骨について光学顕微鏡による組織所見を調査した。

【方法】同種骨移植によるPLIF症例のうち、抜釘に際して同種骨組織の採取に同意の得られたものが8

1623

rhBMP を用いた人工 bone-tendon-bone の作成と  
それを利用した ACL 再建術橋本 浩介<sup>1</sup> 仲 哲史<sup>2</sup> 高岡 邦夫<sup>3</sup>

【目的】われわれは、recombinant human Bone Morphogenetic Protein (以下、rhBMP) を腔内に注入することにより腱骨連結部 (以下、enthesis) を再生させる技術を開発したことを第 21 回本学会にて報告した。その技術を用いて人工 Bone-Tendon-Bone を作成し、それを用いた前十字靭帯 (以下、ACL) 再建術の動物実験モデルを作成したので報告する。

【方法】家兎半腱筋筋腱に rhBMP (30 ug) を 2 か所注入し、腔内に W 所性骨を形成した。rhBMP 注入後 4 週で形成された Bone-Tendon-Bone 複合体を使用して ACL 再建術を行った。術中に移植新生骨をピンにて固定した。ACL 再建術後 4 週に固定ピンを抜去し、8 週で組織を採取した。X 線、CT、H-E 染色、Toluidine Blue 染色で entheses 構造の再現と骨癒合を検索した。rhBMP を含まない PBS 注入群をコントロールとした。

【結果】rhBMP 注入後 4 週の後半腱筋筋腱では patella bone-tendon-bone に類似した組織が得られ、bone-tendon entheses は前回報告した entheses 構造が観察できた。ACL 再建術後 8 週では骨孔は移植骨で埋まり、移植骨と大腿骨および移植骨と脛骨は骨癒合しており、正常組織に近い様相を呈していた。組織学的には entheses 構造が保たれていた。

【考察】ACL 断裂、腱板断裂、深指屈筋腱断裂では entheses の組織破壊がある。現在の腱のみを用いる修復方法では entheses の組織学的な再建は困難である。また骨-腱-骨複合体である膝蓋腱では組織学的な再建はなされるが donor site の障害の問題が残る。われわれが用いた方法では腱を直接骨化させ、膝蓋腱のごとく組織を新生することによってより正常に近似した組織学的な再建ができると考える。

【結論】rhBMP を用いて前十字靭帯再建モデルを作成し、正常に類似した組織像が得られた。

<sup>1</sup>京都市大大学院整形

1-6-24

## ラット 腱板断裂モデルを用いた移植腱の役割

立入 久和<sup>1</sup> 森原 徹<sup>2</sup> 岩田 圭生<sup>2</sup> 吉田 敦彦<sup>2</sup>  
梶川 佳照<sup>2</sup> 木田 圭重<sup>2</sup> 黒川 正夫<sup>3</sup> 河田 光博<sup>4</sup>  
久保 俊一<sup>2</sup>

【はじめに】広範囲腱板断裂に対してパッチ法が行われているが、scaffold として移植腱を用いた場合、移植腱自体の役割についてはいまだ不明である。本研究の目的は、ラット腱板断裂モデル (モデル) を用いて、移植腱の役割を解明することである。

【対象と方法】12 週齢の Sprague Dawley (SD) ラット (n=36)、GFP 遺伝子導入ラット (GFP ラット) (n=72) を対象とした。SD モデルに GFP ラットアキレス腱を移植した群 (A 群)、GFP モデルに SD ラットアキレス腱を移植した群 (B 群)、凍結処理した SD ラットアキレス腱を移植した群 (C 群) を作製した。移植直後、3 日、7 日後に移植腱の凍結切片を作製し、HE 染色による組織学的検討と共焦点レーザー顕微鏡による GFP 陽性細胞の動態を追跡した。また A 群に対して免疫組織化学染色 (抗マクロファージ抗体 (Mφ)、抗 HSP47 抗体 (コラーゲン産生細胞特異的抗体)) を施行し、移植腱細胞の役割を検討した。移植腱への細胞浸潤の程度は、佐野ら、岩田らの評価法を用いて 4 段階 (++)、+, ±, -) で評価した。

【結果】A 群では 7 日で GFP 陽性細胞がほぼ消失した。B 群と C 群を比較すると、移植腱への宿主由来細胞の浸潤は 3 日で B 群 (+)、C 群 (-)、7 日で B 群 (++)、C 群 (+) であった。Mφ は移植腱内に少なく (±-), 移植腱由来のものは認めなかった。HSP47 陽性細胞は移植腱内に少数存在し (+)、移植腱に由来していた。

【考察】GFP ラットを用いることによって、細胞の動態を容易に追跡可能であった。移植腱細胞は、移植後 1 週以内にほぼすべてが消失した。宿主由来細胞は移植腱内に経時的に浸潤するが、C 群では浸潤が遅延し、凍結処理によって移植細胞を壊死させることは腱再構築に不利であると考えた。移植腱内に残存した HSP47 陽性細胞は、細胞外基質または誘引因子を促進している可能性があり、消失するまでの間に、腱再構築に重要な役割をもつ可能性があると考えた。

<sup>1</sup> 社会保険京都病院整形外科 <sup>2</sup> 京都府立医科大学大学院運動器機能再生外科学 (整形外科) <sup>3</sup> 大阪府済生会吹田病院整形外科 <sup>4</sup> 京都府立医科大学大学院生体構造科学

## 1-P1-11

ゼラチンハイドロゲルと線維芽細胞増殖因子を用いた家兎半月板修復

栗田 章<sup>1</sup> 高原 政利<sup>1</sup> 伊藤 和生<sup>1</sup> 佐藤 大祐<sup>1</sup>  
眞野 利博<sup>2</sup> 福島 重宣<sup>3</sup> 木村 祐<sup>3</sup> 田畑 泰彦<sup>3</sup>

【目的】ゼラチンハイドロゲル(GH)を用いて成長因子を持動的に作用させること(徐放)によって、組織修復が促進されるという報告がある。今回 GH を用いた塩基性線維芽細胞増殖因子(FGF2)の投与が、半月板修復に与える影響を *in vivo* の実験で調べた。

【方法】日本白色家兎 21 羽を用いた。両膝内側部で関節包を切開し、内側半月板の辺縁部の滑膜を切開後、半月板の血行野から無血行野に至る幅 4 mm、深さ 2 mm の水平断裂を関節腔内に貫通しないように作成した。シート状の GH に 2 μg の FGF2 を含浸させ、断裂部に挿入し滑膜および関節包を縫合した(FGF 群)。また、同量の生食水を GH に含浸させ、同様に縫合した(対照群)。2.4 週後に半月板を摘出。組織標本を作製し、HE 染色、PCNA および TUNEL 染色を行い、断裂部周囲の細胞密度と陽性率を調べた。断裂部が閉鎖したものを 4 点満点として修復を点数化した。

【結果】実際の水平断裂の長さは FGF 群: 1.98 ± 0.14 mm, 対照群: 1.92 ± 0.16 mm で差はなかった。術後 2 週で、血行野の細胞密度は FGF 群: 2746.5/mm<sup>2</sup>, 対照群: 1160.4/mm<sup>2</sup>, 無血行野では FGF 群: 1223/mm<sup>2</sup>, 対照群: 817.4/mm<sup>2</sup> であり、FGF 群で有意に高値だった。血行野の PCNA 陽性率は FGF 群: 41.1%, 対照群: 20.5%, TUNEL 陽性率は FGF 群: 23.9%, 対照群: 48.6% でいずれも有意差があった。修復の点数は FGF 群: 1.7 点, 対照群: 1.4 点で差はなかった。術後 4 週で、血行野の細胞密度は FGF 群: 2525.6/mm<sup>2</sup>, 対照群: 1363.3/mm<sup>2</sup> であり、FGF 群で有意に高値だったが、無血行野では差がなかった。血行野の PCNA 陽性率は FGF 群: 50.0%, 対照群: 16.3% で有意差があった。修復の点数はそれぞれ 2.4 点、1.2 点で有意差を認めた。

【考察】FGF2 により、半月板血行野での細胞増殖、DNA 断片化の抑制が認められ、修復は促進した。しかし無血行野での促進作用は乏しかった。FGF2 の半減期は短く、単発投与では十分な効果が得られないと報告されている。今回は GH を徐放キャリアとして用いることによって、FGF2 の効果が血行野では十分に発揮されたと考えられる。

<sup>1</sup>山形大整形 <sup>2</sup>済生会山形済生病院 <sup>3</sup>京大再生研

## 1-P1-12

rhBMP を用いた自家腱移植による半月板再建術

仲 哲史 橋本 祐介 高岡 邦夫

【目的】われわれは、recombinant human Bone Morphogenetic Protein (以下、rhBMP) を腱内に注入することにより局所的な腱の軟骨化を経て骨化することを報告している。今回、自家腱移植を用いた半月板再建術の際に rhBMP を移植腱内に注入し、腱を軟骨化し正常に近似した半月板再生を動物実験モデルで試みたので報告する。

【方法】内側半月板切除後、家兎半腱様筋腱を関節腔内に移植した。その際移植腱の関節部分のみに rhBMP (5 ug/10 ul) を注入した。術後 1 カ月・2 カ月にて組織採取し、soft X ray, H-E 染色, Toluidine Blue 染色を行った。免疫学的染色として、type I・II・III collagen に対する抗体を用いて染色した。また rhBMP を含まない PBS 注入腱を使用した半腱様筋腱半月板再建を行った群をコントロール群とした。

【結果】術後 1 カ月・2 カ月ともに、rhBMP 注入群ではコントロール群と比べ再建半月板のボリュームの増加が見られ、肉眼的には正常に近い形態を示した。組織学的には rhBMP 注入群で 1 カ月、2 カ月ともに特に関節側に多数の軟骨細胞が存在し、Toluidine Blue 染色における異染性は正常半月板と類似していた。2 カ月の一部には関節包側に小さい骨化が見られた。

【考察】rhBMP を腱に注入すると局所的に軟骨細胞が多数出現し、半月板様組織を呈し、半月板再生が観察できた。組織学的に正常と類似した半月板再建が可能であった。関節外では通常 rhBMP 注入後 1 カ月にて異所性骨化を生じることが観察され、関節内では異所性骨化が生じ軟骨化に留まることが観察され、関節内という環境が骨化を抑制したと考えられた。

【結論】rhBMP を用いた自家腱移植を行うことにより正常に類似した半月板の再生が可能であった。

大阪市大大学院整形