

腱癒着防止に乳酸-カプロラクトン共重合体 多孔質膜を用いた実験的研究

今 田 英 明

広島大学医学部整形外科学講座 (主任: 生田義和教授)

受付 平成 13 年 9 月 12 日

受理 平成 13 年 10 月 15 日

腱縫合や腱移植を行ったとき, 縫合された腱と周囲組織との癒着を防止できれば, 腱の滑動性が保たれて治療成績は著しく向上する。現在使用されている癒着防止材は二次的に摘出が必要であったり, 癒着防止効果が不明確であるという問題を残している。著者は生体内で吸収される癒着防止材として乳酸-カプロラクトン共重合体多孔質膜 (porous L-lactide-caprolactone copolymer membrane 以下 LLCC 膜と記載する) を用いた実験を行った。またこの膜の癒着防止効果を増強させる目的で, 滑液の主成分であるヒアルロン酸 (hyaluronic acid 以下 HA と記載する) を併用する方法についても検討した。

ビーグル犬の前肢において深趾屈筋腱を切断・縫合した後, 以下の4群すなわち LLCC 群 (縫合部を中心に LLCC 膜を腱周囲に巻く), LLCC+HA 群 (LLCC 膜を巻いた後, 周囲に HA を滴下する), HA 群 (縫合部周囲に HA のみを滴下するのみ), 対照群 (腱縫合後, 何も処置せず) を作製した。術後3週にて屠殺し, 肉眼的, 組織学的ならびに力学的評価を行った結果, LLCC 膜には確実な癒着防止効果があり, 組織反応も軽微であることが確認された。しかし, この膜を使用することにより腱の治癒が遅延した。LLCC 膜の孔径や重合組成比等に関して今後改良すべき点はあるが, 膜の周囲には腱鞘様構造物が構築されており, 組織再生の観点からも, LLCC 膜は生体内吸収性癒着防止材として有用性が高いと結論した。

Key words: 癒着防止膜 (anti-adhesion membrane), 乳酸-カプロラクトン共重合体 (L-lactide-caprolactone copolymer), 多孔質膜 (porous membrane), 屈筋腱 (flexor tendon), 犬 (dog)

腱損傷は整形外科の日常診療においてしばしば遭遇する外傷であり, しかも腱縫合術や腱移植術の治療成績は決して良好とはいえない。その最も大きな要因は縫合された腱が周囲組織と癒着し, 滑動が損なわれることである。この癒着を防止するためには早期に運動訓練を開始する必要がある。早期運動を実現するための強固な縫合法^{47,50)}や厳重な管理下での自動訓練プログラム^{6,22)}などが開発されてきた。しかし, 常に早期運動が可能とは限らず, 様々な状況下では術後一定期間の患肢の固定は避けられず, これに伴う癒着を防止する理想的な材料は未だ開発されていない。現在, 整形外科領域において使用されている癒着防止材にはシリコンシート^{4,17,40)}, ヒアルロン酸 (hyaluronic acid 以下 HA と記載する)^{2,15,21,30,39,42,44)}がある。シリコン

シートは非吸収性であるため, 多くの場合摘出が必要であり, HA は癒着防止効果が不確実であるという欠点がある。そこで著者は新たな癒着防止材として乳酸-カプロラクトン共重合体膜 (L-lactide-caprolactone copolymer 膜以下 LLCC 膜と記載する) に注目した。LLCC 膜は元来吸収性の人工硬膜材料として開発された⁴⁸⁾ものであり, 生体内吸収性高分子ポリエステルであるポリ乳酸とカプロラクトンとを共重合させたもので, 生体内吸収性であるとともに, 適度の弾性があるので操作し易いという特徴がある^{26,28,36)}。本実験の目的は LLCC 膜の癒着防止効果の有無と組織反応性ならびに腱の治癒に対する影響を観察することである。また癒着防止効果を増強させる目的で, 滑液の主成分である HA を併用する方法についても検討した。

なお、本実験は広島大学動物実験指針に基づき行った。

材料と方法

材料

本実験にて使用した LLCC 膜は L-乳酸-ε-カプロラクトン共重合体 (L-ラクチド:カプロラクトン=50:50, 重量平均分子量:約25万) を 4 wt% になるようにジオキサンに溶解させ、この溶液をガラス板に塗布し、 -40°C で凍結させた後、凍結乾燥することで平均孔径約 $10\mu\text{m}$, 厚さ約 $400\sim 600\mu\text{m}$ の多孔質膜にしたものである。作製された膜はエチレンオキサイドガスで滅菌した。

動物と手術

ビーグル犬 (体重 $8\sim 10\text{kg}$) 21頭を用いた。 30mg/kg のペントバルビタールを腹腔内に注入して全身麻酔を行うとともに、各趾に対して 1% 塩酸リドカイン 3ml を用いて趾神経ブロックを追加した。手術は清潔下に駆血帯を用い、3.5倍のルーペを使って同一術者が行った。右前肢の第 2, 5 趾に側正中切開を加えて屈筋腱腱鞘を露出した。近位指節間関節 (Proximal interphalangeal joint 以下 PIP 関節と記載する) を中心に滑膜性腱鞘を 2.5cm 切除し、さらに PIP 関節の中枢・末梢の靭帯性腱鞘を切除して深趾屈筋腱 (Flexor Digitorum Profundus 以下 FDP と記載する) を 2.5cm 露出した。この際、腱内血行を温存する目的で腱紐を温存した。PIP 関節部で FDP をメスにて鋭的に横切した後、直ちに 4-0 Ethibond (Ethicon, New Jersey) を用いて主縫合として Kessler 変法²⁰⁾にて縫合し、さらに補助縫合として 6-0 prolene (Ethicon, New Jersey) を用いて連続縫合を 10 針追加した。主縫合、補助縫合はそれぞれ腱断端から 6.0mm , 1.5mm の部位に糸を通した。また縫合部分

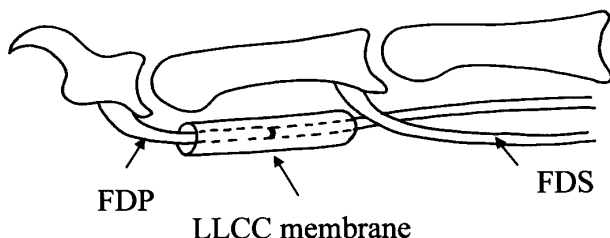


Fig. 1. Schematic demonstration of the operating procedure.

After tenotomy and suture, FDP was wrapped with LLCC membrane.

での癒着を促進するために縫合部を中心に滑走床にメスで約 1cm の長さの 5 本の損傷を加えた。浅趾屈筋腱 (Flexor Digitorum Superficialis 以下 FDS と記載する) は温存した。以上の操作の後、以下の 4 群を作成した。

LLCC 群 ($n=14$): 縫合部を中心に長さ 2.5cm の範囲を LLCC 膜 (平均孔径約 $10\mu\text{m}$, 厚さ約 $400\sim 600\mu\text{m}$) で巻いた (Fig. 1)。これにより糸が腱を貫く部位は十分膜によって被覆された。膜の両端は双極性凝固器を利用して接着して円筒状とした。膜の中枢端、末梢端では残存する滑膜性腱鞘と膜との間に隙間ができないようにした。

LLCC+HA 群 ($n=7$): LLCC 群と同様の処置の後、手術野全体に HA (商品名アルツ 生化学工業, 東京) 0.2ml (分子量 $60\sim 120$ 万) を滴下した。この際、腱と膜の間にも十分 HA を浸透させた。

HA 群 ($n=7$): FDP を縫合後、LLCC 膜を巻かないで HA のみを投与した。

対照群 ($n=14$): FDP を縫合後、直ちに創を縫合した。

いずれの群においても切除した腱鞘は修復せず、皮膚は 5-0 ナイロン糸 (アズウェル, 東京) で縫合した。術後、右前肢は、趾伸展位、手関節 90° 屈曲位、肘関節 90° 屈曲位、肩は中間位にて shoulder spica cast 固定した (Fig. 2)。抗生剤アンピシリンナトリウム (商品名ピクシリン 明治製薬, 東京) 0.25g を術前、術直後に静脈内投与し、さらに術後 5 日間は 1 日 1 回

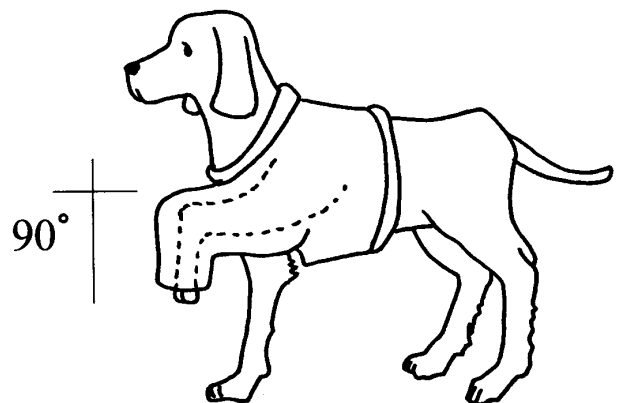


Fig. 2. Schematic illustration of the postoperative immobilization.

The operated limb was then immobilized with a fiberglass spica cast maintaining the interphalangeal and metacarpal joints in extension, the wrist in 90° degrees of flexion, the elbow in 90° degrees of flexion, and the shoulder in neutral position.

アンピシリンナトリウム 0.25 g を筋肉内注射した。

3 週間の外固定の後、ペントバルビタール大量投与により安楽死させた。

評価

1. 肉眼的評価

第2, 5 趾に対して手術創を利用し屈筋腱を露出した。癒着の状態を観察するとともに縫合部の離開の有無、腱表面の状態について観察した。さらに①縫合部と滑走床との間、②FDP と FDS との間、③縫合部と周囲軟部組織との間の3カ所 (Fig. 3) の癒着の程度を第3者である整形外科医が Rothkopf らの Adhesion rating scale⁴⁾に準じ 0 ~ 4 点の5段階 (Table 1) で評価し、合計12点満点として比較した。

2. 組織学的評価

屠殺後、腱縫合部を中心として周囲の組織とともに摘出し、4%ホルムアルデヒドで24時間固定した後、エタノール系列で脱水し、ヘマトキシリン・エオジン染色を行った。組織学的評価では、a) 癒着の程度、b) 腱癒合の状況、c) 癒着防止膜が周囲組織に及ぼす影響について重点的に観察した。

3. 力学的評価

屠殺後、両側第2, 5 趾を中手指節関節 (Metacarpophalangeal joint 以下 MP 関節と記載する) 部にて離

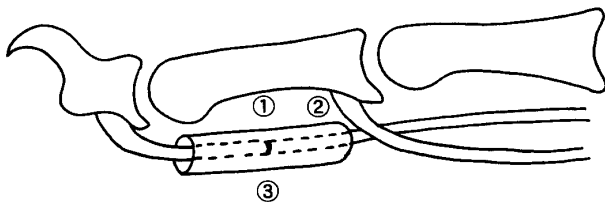


Fig. 3. The tendons were graded for adhesion formation at three sites.

- ①Between FDP and sliding bed
- ②Between FDP and FDS
- ③Between FDP and surrounding tissue

断した。その際、FDS は MP 関節部にて切断し、FDP は MP 関節より約 4 cm 中枢にて切断した。腱縫合部を展開したり損傷しないよう十分注意した。基節骨に、その長軸に対して垂直となるように直径 1.0 mm の2本のキルシュナー鋼線を刺入し、これを利用して特設台に固定した。FDP を引張試験機 (株TOYO BALDWIN, 東京, RTM-500 型) を用いて cross head speed 10 mm/min にて500 gf まで牽引し、DIP.PIP 関節の屈曲角度の合計、FDP の滑走距離を測定した。続いて FDP を末節骨とともに摘出し、腱縫合部の最大張力 (単位 kgf) を計測した。

なお統計学的検討には ANOVA を行い、多重比較には Bonferroni/Dunn 法にて危険率 5%未満を有意差ありとした。

結 果

LLCC 群, 対照群のうち趾全体の発赤, 腫脹が認められ感染の疑われた1頭を評価対象から除外した。

1. 肉眼的評価 (Fig. 4)

縫合部が離開したり断裂した例は認められなかった。

対照群：縫合部を中心に腱全体が密な癒着組織に覆われており、特に縫合部と周囲軟部組織の間の癒着が著明であった。

HA 群：腱全体に癒着を認めるが、対照群と比較すると脆弱で、周囲組織とは容易に剥離が可能であった。

LLCC 群：LLCC 膜は残存していたが、本来、白色であった膜は黄色に変色し、弾性は失われて鑷子にて把持することにより簡単に小片に分かれ、膜が分解しつつあることが観察された。膜表面には白色の線維組織が付着していた。膜を切開すると膜と腱の間には癒着はほとんど認められないが、膜の中枢、末梢部から癒着組織が腱と膜の隙間に侵入しているのが観察され、この部での癒着が認められた。膜が取り巻いていた部分の腱は光沢が失われ、やや細くなっていた。

Table 1. Macroscopic adhesion rating scale

0 : None	(there is no adhesion between tendon and surrounding tissue)
1 : Few	(tendon can be very easily separated from surrounding tissue)
2 : Moderate	(tendon can be easily separated from surrounding tissue despite of some fibrous bundles between tendon and surrounding tissue)
3 : Severe	(tendon can be separated from surrounding tissue with difficulty because of many fibrous bundles between tendon and surrounding tissue)
4 : Severe and Dense	(tendon can be separated from surrounding tissue only with a scalpel because of hard and dense fibrous tissue between tendon and surrounding tissue)

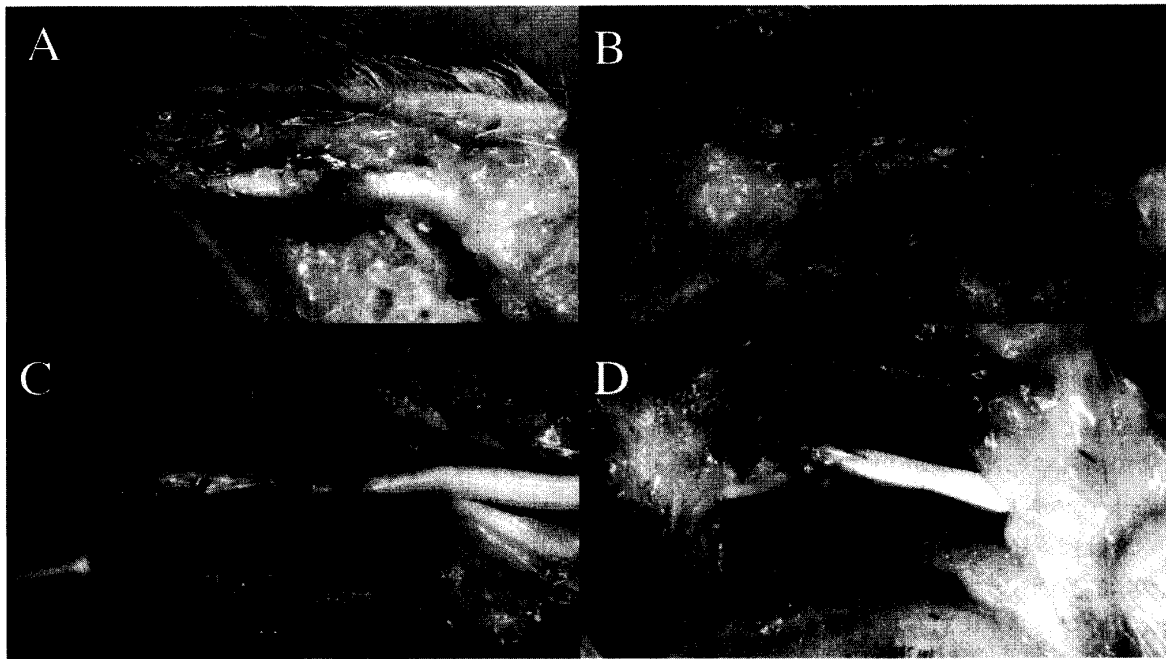


Fig. 4. Macroscopic evaluation of adhesion.

(A) control group. (B) HA group. (C) LLCC group. (D) LLCC+HA group.

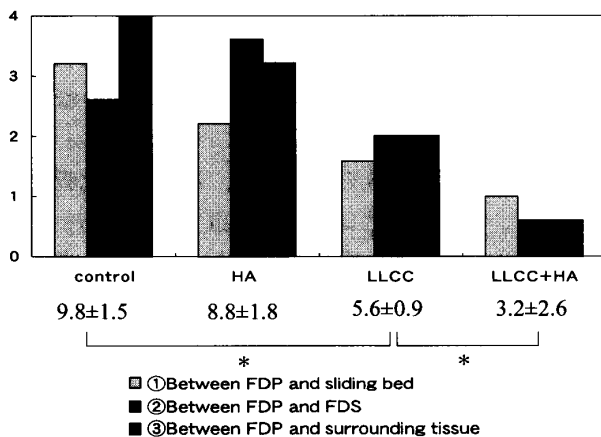


Fig. 5. Comparison of values for adhesion scores

*: Significantly different, $p < 0.05$

LLCC+HA 群：LLCC 群同様，膜は残存し，黄色に変化していた。膜を切開すると内部には癒着はほとんど認められず，特に縫合部と滑走床の間，FDP と FDS との間では半数の趾で癒着は全く観察されなかった。さらに LLCC 群と比較し，腱表面は正常に近い光沢で，腱と対向する膜の表面も平滑であった。

肉眼的評価の合計点数はそれぞれ，対照群； 9.8 ± 1.5 ，HA 群； 8.8 ± 1.8 ，LLCC 群； 5.6 ± 0.9 ，LLCC+HA 群； 3.2 ± 2.6 であり，対照群，HA 群に比べ LLCC 群は有意に癒着が軽減されており ($p < 0.05$)，LLCC+HA 群では癒着形成はさらに有意に改善していた ($p < 0.05$) (Fig. 5)。

2. 組織学的評価

対照群：縫合部を中心に，腱と周囲組織の間には新生血管を伴う密な膠原線維の増生を認め，腱と周囲組織の境界は不明瞭であり癒着の形成が観察された。縫合部は腱線維方向と垂直に配列する線維芽細胞により充填されていた (Fig. 6)。

HA 群：対照群の組織所見と大きな差は認められず，腱と周囲組織の間には密な癒着組織の形成を認め，縫合部は線維芽細胞により満たされていた (Fig. 6)。

LLCC 群：腱と周囲組織の間には線維性の連続はなく，癒着はほとんど認められなかったが，肉眼的所見と同様，膜の中核，末梢部から膜と腱との間隙に肉芽組織が侵入するためにこの部にて癒着が観察された。両断端表面は腱上膜細胞により架橋され，腱の表面から修復が開始している所見が見られたが，深部への線維芽細胞の侵入は認められず，コントロール群や HA 群と比較し腱の癒合が遅延化している所見が認められた。また膜に被覆された部分の腱の表面は，幼若な線維芽細胞を含む層状の線維性組織により覆われていた (Fig. 7)。挿入した LLCC 膜は線維性組織から成る膜様組織により覆われており，その内部には不規則に配列する線維芽細胞の他に多数のマクロファージと多核を有する異物型の巨細胞の侵入が認められ，この部での旺盛な貪食反応を示唆していた。しかし，この反応は膜内部とそこごく周囲に限られており，周囲への炎症細胞の浸潤はほとんど認められなかった。また，

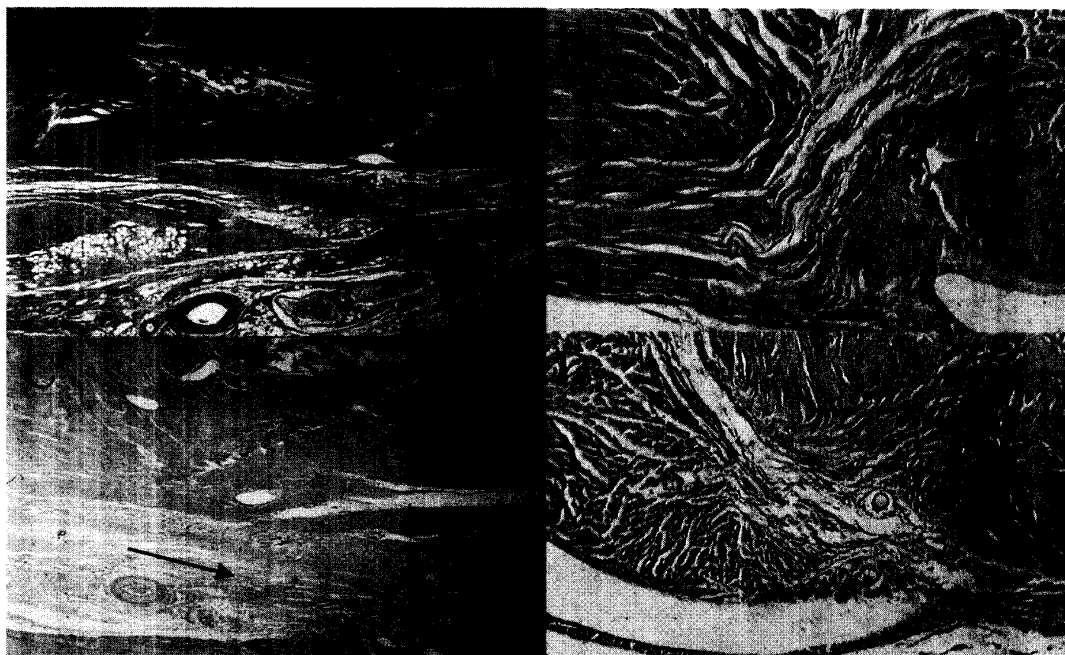


Fig. 6. Photomicrographs of control group and HA group.

(A) (B): control group. (C) (D): HA group.

Arrow shows the dense adhesions between FDP and surrounding tissue in (A) (C) ($\times 10$).

The healing fibroblasts are perpendicular to the long axis of the tendon in (B) (D) ($\times 50$).

There is no significant difference between control group and HA group.

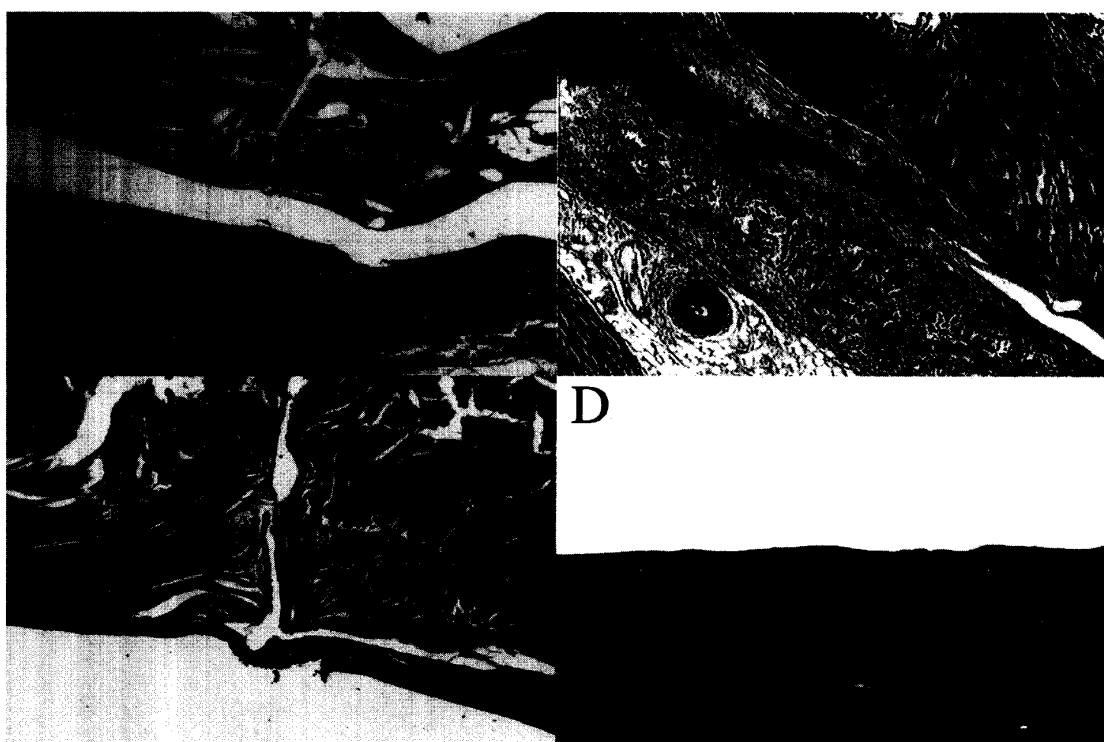


Fig. 7. Photomicrographs of LLCC group.

(A) No adhesion of the tendon with surrounding tissue is noted ($\times 10$).

(B) There is the invasion of granulation tissue between the tendon and LLCC membrane at the end of membranous tube ($\times 10$). G: granulation L: LLCC membrane

(C) Tendon stumps are bridged with epitenon cells, but not filled with the healing fibroblasts ($\times 100$).

(D) Smooth fibrous layers cover the surface of the tendon wrapped with LLCC membrane ($\times 100$).

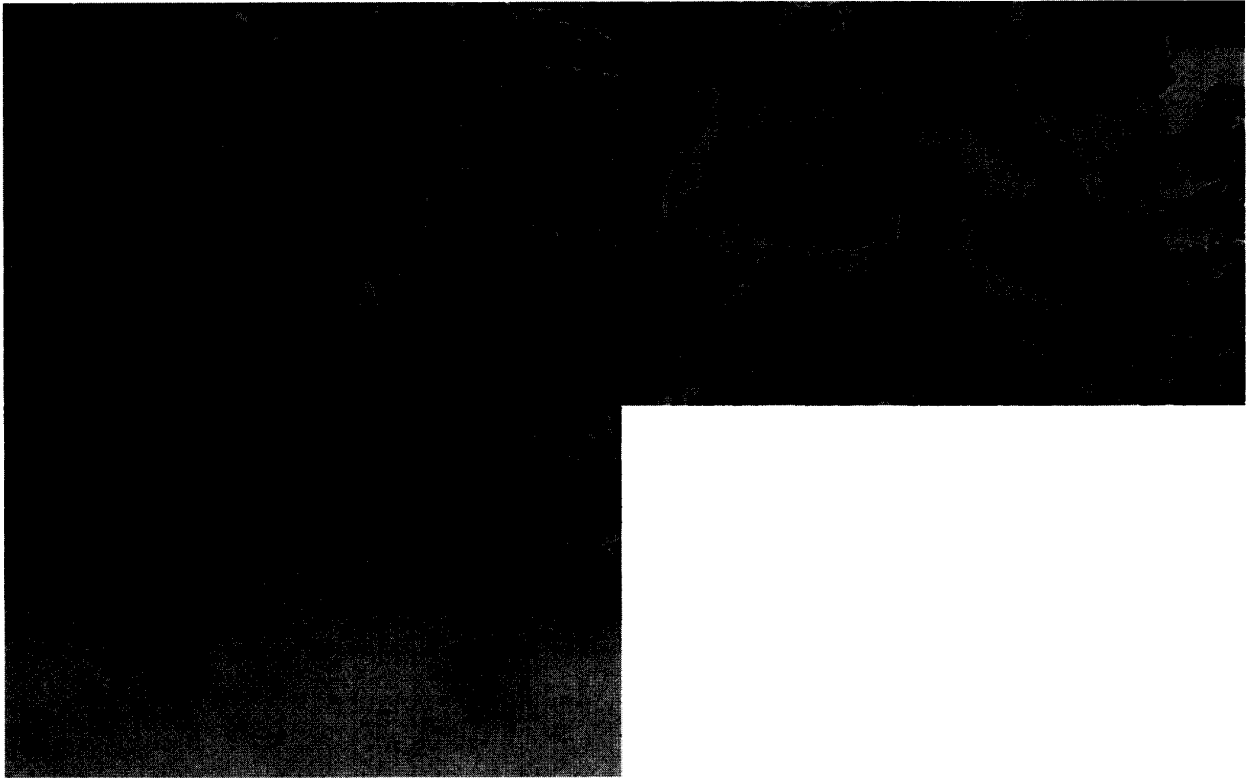


Fig. 8. Photomicrographs of LLCC group.

(A) Foreign-body reaction of LLCC membrane is localized ($\times 50$).

(B) Proliferation of macrophages and dark multinucleated giant cells are observed in LLCC membrane ($\times 200$).

(C) LLCC membrane is covered with fibrous tissue layers. Epitenon cells are migrating on these layers ($\times 200$).

Table 2. The gliding function and tensile strength (mean \pm S.D.) of the repaired tendons.

	Total angular rotation of DIP and PIP joint ($^{\circ}$)	Linear excursion (mm)	Ultimate tensile strength (kgf)
Control	42.1 \pm 11.1	7.7 \pm 3.2	3.0 \pm 0.8
HA	38.5 \pm 14.8	6.8 \pm 2.4	2.5 \pm 0.7
LLCC	60.3 \pm 18.9	10.0 \pm 3.1	1.7 \pm 0.7
LLCC+HA	62.6 \pm 28.1	8.8 \pm 2.2	1.8 \pm 1.2

LLCC 膜の最表層には膜の両端から浸潤してきたと思われる滑膜細胞が水平方向に配列していた (Fig. 8)。

LLCC+HA 群：腱の周囲には空隙が保たれており、腱と周囲組織の間の癒着は観察されなかった。LLCC 群の組織学的所見と著明な差は認められなかった。

3. 力学的評価

各評価項目の結果を Table 2 に示す。

屈曲角度：LLCC 群, LLCC+HA 群とも対照群, HA 群の両方に対して, 屈曲角度は有意に増加していた。LLCC 群と LLCC+HA 群間, ならびに対照群と HA 群間では有意差は認められなかった (Fig. 9)。

腱滑走距離：LLCC 群は対照群, HA 群の両方と比較

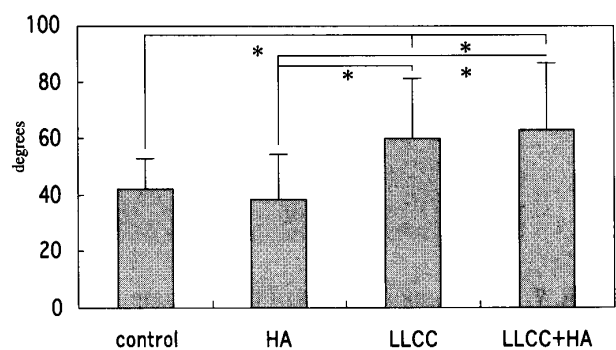


Fig. 9. Total angular rotation of DIP and PIP joint.

*: Significantly different, $p < 0.05$

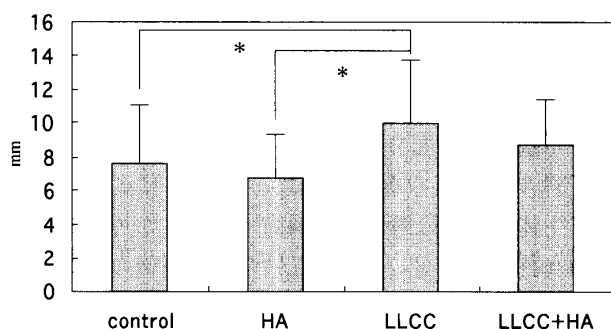


Fig. 10. Linear excursion of repaired tendons.

*: Significantly different, $p < 0.05$

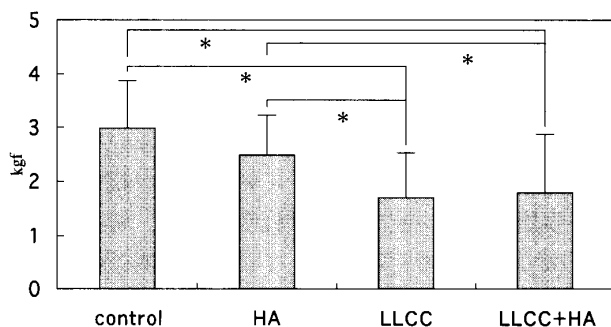


Fig. 11. Ultimate tensile strength of repaired tendons.

*: Significantly different, $p < 0.05$

し、腱滑走距離は有意に増加していた。対照群, HA 群間では有意差は認められなかった (Fig. 10)。

最大張力: LLCC 群, LLCC+HA 群とも対照群, HA 群の両方と比較し最大張力は有意に低下していた。LLCC 群と LLCC+HA 群間, ならびに対照群と HA 群間では有意差は認められなかった (Fig. 11)。

考 察

腱組織はいったん損傷されると治癒過程で周囲組織と癒着しやすく、癒着をいかに軽減するかによって治療成績に大きな差が生じる。損傷された腱の治癒に関して、Potenza⁴⁰⁾は犬の屈筋腱を切断・縫合後にポリエチレン膜 (polyethylene film) で覆う実験から、腱細胞には増殖能はなく、腱の癒合には血管新生を伴う周囲組織からの線維性肉芽組織の侵入が必要であり、肉芽組織に含まれる線維芽細胞が腱の修復に不可欠であると述べている。したがって腱が治癒する過程において周囲組織と癒着することは止むを得ないと結論している。一方、Lindsay ら²⁴⁾はニワトリの屈筋腱を用い、腱切断部を polyethylene tube で覆うことにより癒着を防ぎつつ、主に腱上膜細胞により切断部が修復され

ることを証明した。また Lundborg ら²⁵⁾はウサギの腱を切断・縫合後、膝関節内に留置し、この腱が周囲と癒着することなく修復されることを報告し、Matthews ら²⁹⁾は遊離腱が腱鞘内で滑液の拡散により癒着することなく修復されることを確認することにより、それぞれ腱自体の細胞に自己修復能があることを報告している。さらに Gelberman ら⁸⁾は、in situ hybridization 法を用いて腱修復時における type I collagen の messenger RNA の発現状態を観察し、それが腱上膜細胞にのみ局限していることを解明し、intrinsic healing の存在を裏付けた。

一連の研究により、一定の条件下では縫合腱は周囲と癒着することなく癒合することが可能であり、そのためには腱鞘の温存と早期の運動訓練が重要であることも解明されてきた。このため、早期運動に耐えうるだけの張力を有する様々な屈筋腱縫合法が開発されており、吉津⁵⁰⁾、Winters ら⁴⁷⁾はそれぞれ6本、8本の糸を用いた主縫合と補助縫合とを組み合わせることにより縫合張力が著明に増加したことを報告している。さらに Kleinert²⁰⁾、Chow ら⁶⁾は厳重な管理下に早期運動を行った臨床例を報告し、良好な成績を獲得できたと述べている。

以上のように基礎、臨床の両面の研究が進むにつれて屈筋腱縫合後の癒着の機序が解明され、いくつかの癒着防止の方法が試みられてきた。しかし、常に理想的な条件下での腱修復が可能な訳ではなく、癒着防止の問題は解決していない。例えば、骨折合併例で術後一定期間の外固定が必要な症例や、広範囲の軟部組織の挫滅を合併して腱鞘が温存されていない症例では、癒着は避けられず、このような状況下で使用可能な癒着防止材料の開発が行われてきた。癒着防止のための薬剤に関する研究としては、1950年代の Carstam⁵⁾、Grant¹⁴⁾らの副腎皮質ステロイド剤に関する報告以来、コンドロイチン硫酸³⁰⁾、ヘパリン³¹⁾、HA^{2,15,21,30,39,42,44)}、抗ヒスタミン剤³²⁾などに関する報告がある。特に HA は軟骨、滑膜組織、関節液、ならびに腱鞘内滑液内に豊富に存在しており、生体に安全であるという観点から多くの報告がある。しかし、有効な分子量や濃度については研究者間で意見の差があり、さらに癒着防止効果が全く認められないという報告もあり³⁰⁾、HA の癒着防止効果については未だ議論の残るところである。また HA などの液状の癒着防止材は局所滞留時間が短期で³⁷⁾、長期の固定を必要とする症例においては癒着防止効果の持続性に疑問が残る。斉藤ら⁴²⁾はこのような問題を解決する目的で、局所滞留性を高めたヒアルロン酸ケイヒ酸フィルムを作成し、長期の癒着防

止効果を報告している。以上のように膜状の癒着防止材は液状、ゲル状の癒着防止剤に比べて局所滞留性に優れていることに加え、必要な大きさに自由に形成でき、目的とする部位に確実に留置できるといった利点がある³⁰⁾。

癒着防止膜の開発は、古くは Henze, Mayer らによる脂肪、静脈、軟骨膜などの生体材料を用いた報告が始まる。その後、合成樹脂の開発が進み、セロファン⁴⁶⁾、ポリエチレン膜¹³⁾、セルロースチューブ¹³⁾、millipore³⁾、シリコンシート^{4,17,40)}などの高分子材料の利用が報告されているが、セロファン、ポリエチレン膜、シリコンシートなどの非透過性膜は、癒着防止効果を有するものの腱の治癒に悪影響を与え、セルロースチューブや millipore は、滑液透過性を有するものの非吸収性のために二次的に摘出術が必要であるという問題がある。生体内吸収性の癒着防止膜としてはフィブリン膜⁴⁶⁾、コラーゲン膜³⁸⁾、ゼラチン膜¹⁸⁾などが報告されており、さらに近年では静脈や脂肪⁴³⁾などの生体材料も再び注目されている。しかし、フィブリン、コラーゲン、ゼラチンはいずれも牛などの動物性蛋白質から生成するものであり、多少の抗原性を有していることに加えて、十分な強度が得られないという欠点がある。また静脈や脂肪組織は分解・吸収速度を調節できないという問題がある。以上から理想的な癒着防止材とは、1) 確実な癒着防止効果を有する、2) 生体内吸収性で、かつ分解吸収速度の調節が容易である高分子化合物から構成される、3) 伸展・柔軟性に富み、かつ引っ張り等の操作に耐えうる強度がある、4) 組織反応性が軽微である、5) 滑液透過性があり、腱の治癒に必要な栄養を阻害しない、といった条件を満たすものである。

生体内吸収性の高分子化合物としては乳酸、グリコール酸の単重合体、あるいはこれらの共重合体について研究がすすんでおり^{12,33,34)}、臨床の現場でも生体内吸収性の縫合糸の材料として利用されている。これらは加水分解の結果、最終的には炭酸ガスと水になるので生体にとって安全な材料であるため、人工生体材料として優れた特性を有する。しかし、いずれも常温では剛性が高すぎ、手の外科手術の様な比較的術野の狭い手術では操作しにくいという問題がある。これらの点を考慮し、今回脂肪族ポリエステル高分子材料である乳酸とカプロラク톤の共重合体、すなわち LLCC 膜^{28,36)}に着目して実験を行った。カプロラク톤はポリ乳酸同様、生体内吸収性であり、単重合体または共重合体として外科手術用縫合糸³⁵⁾や縫合糸のコーティング剤、あるいは創傷被覆材や神経ガイド

チューブ¹⁷⁾、接着剤²³⁾さらには薬物徐放剤⁴⁵⁾として医療用応用が研究されている。単重合体では弾性が低くて力学的に脆いが、乳酸と共重合させることにより弾性が増加し、強度も増加することが報告されており、分子量や乳酸との重合組成比を変化させることにより、生体内での分解速度を調節することが可能であるという特徴がある。また多孔性のため滑液の透過性がある。本実験の結果、LLCC 膜が肉眼的、組織学的ならびに力学的評価から確実な癒着防止効果を有していることに加え、腱と滑走床との間を引っ張って通したり、細い腱の周囲に巻き付けるといった手術操作において損傷されない適度の弾性と強度があることが確認された。また膜同士を双極性凝固器によって接着することが可能であり、膜の固定に特別な材料を必要としないという利点もあった。一方、膜内部にはマクロファージや異物型の巨細胞が多数存在していたことから、活発な貪食反応が起こっていることが観察されたが、膜周囲への炎症の波及は軽度であり、組織反応性は軽微であると考えられた。また膜の周囲に線維性の膜様組織が形成され、その表面に周囲からの滑膜細胞が膜を足場として進入し、腱鞘様組織を構築している所見が認められ、LLCC 膜が失われた腱鞘を修復し、かつ癒着を防止する生体内吸収性の人工腱鞘として応用できる可能性が示唆された。

LLCC 膜は多孔性であり、滑液透過性を有しているが、その程度は孔径の大小に左右される。藤村ら⁷⁾はニワトリの屈筋腱を用いた実験にて平均 $10\mu\text{m}$ と $20\sim 100\mu\text{m}$ の孔を有した2種類の LLCC 膜を使用し、 $10\mu\text{m}$ の孔の膜の方が周囲からの線維性細胞の侵入をより強く抑制し、癒着防止効果に優れていたと報告しているが、膜の孔径が腱の癒合に及ぼす影響に関しては検討していない。本実験では癒着防止効果の優れていた孔径 $10\mu\text{m}$ の多孔質膜を使用した。腱の癒合が遷延化し最大張力が低下することが観察された。腱の癒合には腱内血行と滑液拡散に加え、周囲からの線維性細胞の侵入が大きな役割を果たすと考えられており^{9-11,27,49)}、本実験では腱紐を温存することにより腱内血行を障害しないよう工夫したが、腱周囲に膜を巻くことにより滑液拡散が障害されたことに加え、周囲からの線維性細胞の侵入が阻害されたことも腱の修復に悪影響を与えた一因と考えた。また膜を巻き付けた部位に一致して屈筋腱の表面に幼若な線維芽細胞を含む線維性組織の層が形成されており、LLCC 膜の分解産物が腱の治癒に対しても影響を与えている可能性が示唆された。また腱周囲に巻き付けた膜の両端の隙間から肉芽組織が膜と腱の間に侵入し、この部での癒着

が認められた。この問題は膜という性質上避けられないと考えられるが、力学的評価の結果、癒着は軽微で、自動運動により容易に剥離されるものと考えた。

LLCC 膜の癒着防止効果を増強させる目的で、滑液の主要構成要素である HA を併用する方法についても検討した。HA には 1) 潤滑作用, 2) 顆粒球, マクロファージの遊走, 貪食に対する抑制作用, 3) 肉芽形成や線維形成の抑制作用^{1,16)}が報告されている。実験の結果, HA 併用により肉眼的評価においては癒着防止効果の増強が認められた。しかし HA を併用することにより腱の癒合は促進されなかった。また HA 単独投与ではいずれの評価項目においても癒着防止効果は認められなかった。HA を併用することによって癒着防止効果が増強した原因として, HA の局所滞留時間は約72時間³⁷⁾と短期であるため, 単独投与では3週間の外固定期間中, 癒着防止効果を持続できなかったが, LLCC 膜と併用することにより HA の局所滞在時間が延長し, HA の肉芽, 線維形成の抑制作用が持続したことが考えられた。

今後, 癒着防止と腱の修復という相反する2つの現象を両立するような理想的な LLCC 膜を完成させるためには, 滑液の拡散を障害せず, 一定期間のみ周囲からの線維性細胞の侵入を抑制した後, 速やかに分解吸収されるような膜の重合組成比と孔径についての検討が必要と思われる。また, 本実験では腱縫合後の外固定期間を想定し, 術後3週目における評価を行ったが, 組織反応と滑液透過, ならびにそれらが腱の治癒に及ぼす影響については, 膜が完全に分解吸収されるまでの長期の観察が必要であると考えられた。

以上から, LLCC 膜を腱縫合後の癒着防止膜として臨床応用するにはいくつかの改良すべき点が考えられたが, 縫合強度の心配のない腱剥離術や腱移行術においては理想的な癒着防止膜であり, 今後の研究により, 幅広い分野での活用が期待できると考えている。

謝 辞

稿を終えるに臨み, 終始御指導, 御校閲を賜った恩師生田義和教授に深甚なる謝意を捧げます。また研究に直接懇篤なる御指導を賜った広島大学整形外科石田治助手, 広島大学保健学科梶原博毅教授に心より深謝致します。また, 終始御支援, 御協力下さいました杉田孝助教授, 宗重博助教授, 藤本吉範講師, 教室員各位に深く感謝するとともに, 御協力を賜りました株式会社 JMS 中央研究所第4研究室, 藤村健治氏, その他の諸氏に厚く感謝の意を表します。

(本論文の要旨の一部は第16回日本整形外科学会基礎学術集会において発表した。)

参 考 文 献

1. **Abatangelo, G., Martelli, M. and Vecchia, P.** 1983. Healing of hyaluronic acid-enriched wounds: Histological observations. *J. Surg. Res.* **35** : 410-416.
2. **Amiel, D., Ishizue, K., Billings, E., Wiig, M., Berg, J. V., Akeson, W. H. and Gelberman, R. H.** 1989. Hyaluronan in flexor tendon repair. *J. Hand. Surg. [Am]* **14** : 837-843.
3. **Ashley, F. L., Stone, R. S., Alonsoartieda, M., Syverud, J. M., Edwards, J. W., Sloan, R. F. and Mooney, S. A.** 1956. Experimental and clinical studies on the application of monomolecular cellulose filter tubes to create artificial tendon sheath in digits. *Plast. Recontstr. Surg.* **23** : 526-533.
4. **Bader, K. F., Sethi, G. and Gurtin, J. W.** 1968. Silicone pulleys and underlays in tendon surgery. *Plast. Recontstr. Surg.* **41** : 157-164.
5. **Carstam, N.** 1953. The effect of cortisone on the formation of tendon adhesions and tendon healing. An experimental investigation in the rabbit. *Acta. Chir. Scand (Suppl)* : 182.
6. **Chaw, J. A., Thomas, L. J., Dovel, S., Monsivais, J., Milnor, W. H. and Jackson, J. P.** 1998. Controlled motion rehabilitation after flexor tendon repair and grafting. A multi-center study. *J. Bone. Joint Surg. [Br]* **70** : 591-595.
7. 藤村健治, 富田直秀, 岩田博夫, 山内康治, 筏 義人 2000. 乳酸カプロラクトン共重合体多孔質膜の屈筋腱癒着防止効果. *日本臨床バイオメカニクス学会誌* **20** : 355-359.
8. **Gelberman, R. H., Amiel, D. and Harwood, F.** 1992. Genetic expression for type I procollagen in the early stages of flexor tendon healing. *J. Hand. Surg. [Am]* **17** : 551-558.
9. **Gelberman, R. H., Khabie, V. and Cahill, C. J.** 1991. The revascularization of healing flexor tendons in the digital sheath. A vascular injection study in dogs. *J. Bone. Joint. Surg. [Am]* **73** : 868-881.
10. **Gelberman, R. H., Steinberg, D., Amiel, D. and Akeson, W.** 1991. Fibroblast chemotaxis after tendon repair. *J. Hand. Surg. [Am]* **16** : 686-693.
11. **Gelberman, R. H., Vandeberg, J. S., Manske, P. R. and Akeson, W. H.** 1985. The early stages of flexor tendon healing: A morphologic study of the first fourteen days. *J. Hand. Surg. [Am]* **10** : 776-784.
12. **Gilding, D. K. and Reed, A. M.** 1979.

- Biodegradable polymers for use in surgery-polyglycolic/poly (lactic acid) homo-and copolymers. *Polymer*: 1459-1464.
13. **Gonzalez, R. I.** 1949. Experimental tendon repair within the flexor tunnels: Use of polyethylene tubes for improvement of functional results in the dog. *Surg.* **26** : 181-198.
 14. **Grant, G.** 1953. The effect of cortisone on healing of tendon in rabbits. *J. Bone. Joint. Surg. [Am]* **35** : 525.
 15. **Hagberg, L.** 1992. Exogenous hyaluronate as an adjunct in the prevention of adhesions after flexor tendon surgery: A controlled clinical trial. *J. Hand. Surg. [Am]* **17** : 132-136.
 16. **Hellstrom, H. and Laurent, C.** 1987. Hyaluronan and healing of tympanic membrane perforations. An experimental study. *Acta Otolaryngol Supple.* **442** : 54-61.
 17. **Hoppen, H. J., Leenslag, J. W., Pennings, A. J., van der Lei, B. and Robinson, P. H.** 1990. Two-poly biodegradable nerve guide. Basic aspect of design, construction and biological performance. *Biomaterials.* **11** : 286-290.
 18. 石田仁志, 玉井 進, 富田直秀, 豊畑賢司, 筏 義人 1993. ゼラチン膜の癒着防止効果について (第2報). *日手会誌* **10** : 215-219.
 19. 伊藤恵康, 堀内行雄, 飯島謹之助, 小林保範, 高山真一郎, 内西兼一郎, 佐々木 孝, 岩田清二 1984. 手の外科における Silastic Sheeting の応用—各種癒着防止材料の適応にもふれて— *臨整外* **19** : 983-989.
 20. **Kessler, I. and Nissim, F.** 1969. Primary repair without immobilization of flexor tendon division within the digital sheath. An experimental and clinical study. *Acta. Orthop. Scandinav.* **40** : 587-601.
 21. 木村三穂, 舩田和之, 菅野裕子, 石井清一 1992. 手指屈筋腱損傷に対するヒアルロン酸の癒着防止効果に関する研究. *日手会誌* **9** : 206-209.
 22. **Kleinert, H. E., Kutz, J. E., Ashbell, T. S. and Martinez, E.** 1967. Primary repair of Lacerated flexor tendons in "No man's land". *J. Bone. Joint. Surg. [Am]* **49** : 577.
 23. **Kobayashi, H., Hyon, S-H. and Ikeda, Y.** 1991. Water curable and biodegradable prepolymers. *J. Biomed. Mater. Res.* **25** : 1481-1494.
 24. **Lindsay, W. K. and Thomson, H. G.** 1960. Digital flexor tendons: An experimental study Part 1. The significance of each component of the flexor mechanism in tendon healing. *Brit. J. Plast. Surg.* **12** : 289-316.
 25. **Lundborg, G. and Rank, F.** 1978. Experimental intrinsic healing of flexor tendons based upon synovial fluid nutrition. *J. Hand. Surg.* **3** : 21-31.
 26. **Malin, M., Hiljanen-Vainio, M., Karjalainen, T. and Seppala, J.** 1996. Biodegradable lactone copolymers II. Hydrolytic study of ϵ -caprolactone and lactide copolymers. *J. Applied. Polym. Sci.* **59** : 1289-1298.
 27. **Manske, P. R., Bridwell, K. and Lesker, P. A.** 1978. Nutrient pathways to flexor tendons of chickens using tritiated proline. *J. Hand. Surg.* **3** : 352-357.
 28. 松井輝夫, 中村達雄, 津田 透, 李 永浩, 清水慶彦, 車 源日, 玄 丞休, 筏 義人, 西谷光司 1993. ϵ -カプロラクトン-乳酸共重合体およびポリ- ϵ -カプロラクトンの生体内分解に関する研究. *生体材料* **11** : 330-336.
 29. **Matthews, P.** 1974. The repair potential of digital flexor tendon. *J. Bone. Joint. Surg. [Br]* **56** : 618-625.
 30. **Meyers, S. A., Seaber, A. V., Glisson, R. R. and Nunley, J. A.** 1989. Effect of hyaluronic acid/chondroitin sulfate on healing of full-thickness tendon lacerations in rabbits. *J. Orthop. Res.* **7** : 683-689.
 31. 室積正人 1993. 腱のヘパリン化による癒着防止の実験的研究. *日手会誌* **9** : 955-961.
 32. 中村 潔, 南條文昭, 吉井満寛 1998. Tranilast の腱癒着防止効果に関する検討. *日手会誌* **5** : 189-193.
 33. **Nakamura, T., Hitomi, S., Watanabe, S., Shimizu, Y., Jamshidi, K., Hyon, S-H. and Ikeda, Y.** 1989. Bioabsorption of polylactides with different molecular properties. *J. Biomed. Mater. Res.* **23** : 1115-1130.
 34. **Nakamura, T., Ike, O., Watanabe, S., Shimizu, Y., Shimamoto, T., Hyon, S-H. and Ikeda, Y.** 1987. Biodegradation for meshes prepared from Poly-L-Lactide. *Transact. European society for Biomaterials* : 119.
 35. **Nakamura, T., Shimizu, Y., Matsui, N., Okumura, S., Hyon, S-H. and Nishiya, K.** 1992. A novel bioabsorbable monofilament surgical suture made from (ϵ -caprolactone, L-lactide) copolymer, p.153-162 *In* H. Planc, M. Dauner and M. Renardy (eds.), *Degradation phenomena on polymeric biomaterials.* publisher, Springer-Verlag.
 36. 中村達雄, 清水慶彦 1990. ポリ乳酸類による生体吸収性外科用埋植材料の開発. *病態生理* **9** : 478-488.
 37. 並木 侑 1985. ヒアルロン酸の腱癒着防止効果に関する研究. *結合組織* **16** : 258-259.
 38. 奥井光敏 1989. 損傷腱の癒着防止に関する実験的研究. *日手会誌* **5** : 1134-1148.
 39. **Onge, R. ST., Weiss, C., Denlinger, J. L. and Balazs, E. A.** 1980. A Preliminary assessment of Na-Hyaluronate injection into "No man's Land" for primary flexor tendon repair. *Clin. Orthop.* **145** :

- 269-275.
40. **Potenza, A. D.** 1963. Critical valuation of flexor-tendon healing and adhesion formation within artificial digital sheaths. An experimental study. *J. Bone. Joint. Surg. [Am]* **45** : 1217-1233.
 41. **Rothkopf, D. M., Webb, S., Szabo, R. M., Gelberman, R. H. and May, J. W.** 1992. A Experimental model for the study of canine flexor tendon adhesions. *J. Hand. Surg. [Am]* **16** : 694-700.
 42. 斉藤浩哉, 蔡 詩岳, 畠山広明 2000. ヒアルロン酸ケイヒ酸フィルムを用いた腱癒着防止に関する研究. *日手会誌* **16** : 878-886.
 43. **Strauch, B., Moura, W., Ferder, M., Hall, C., Sagi, A. and Greenstein, B.** 1985. The fate of tendon healing after restoration of the integrity of the tendon sheath with autogenous vein grafts. *J. Hand. Surg. [Am]* **10** : 790-795.
 44. **Thomas, S. C., Jones, L. C. and Hungerford, D. S.** 1986. Hyaluronic acid and its effect on post-operative adhesions in the rabbit flexor tendon. *Clin. Orthop.* **206** : 281-289.
 45. **Wada, R., Hyon, S-H., Nakamura, T. and Ikeda, Y.** 1991. In vivo evaluation of sustained drug release from biodegradable elastomer. *Pharmaceutical Research.* **8** : 1292-1296.
 46. **Weckesser, E. C., Shaw, B. W., Spears, G. N. and Shea, P. C.** 1949. A comparative study of various substances for the prevention of adhesions about tendons. *Surg.* **25** : 361-369.
 47. **Winters, S. C., Gelberman, R. H., Woo, S. L-Y., Chan, S. S., Grewal, R. and Seiler III, G.** 1998. The effects of multiple-strand suture methods on the strength and excursion of repaired intrasynovial flexor tendons: A biomechanical study in dogs. *J. Hand. Surg. [Am]* **23** : 97-104.
 48. **Yamada, K., Miyamoto, S., Nagata, I., Kikuchi, H., Ikeda, Y., Iwata, H. and Yamamoto, K.** 1997. Development of a dural substitute from synthetic bioabsorbable polymers. *J. Neurosurg.* **86** : 1012-1017.
 49. 吉川泰弘, 矢部 裕 1995. 腱の修復過程. *形成外科* **38** : 1187-1202.
 50. 吉津孝衛, 牧 裕, 田島達也, 草野 望 1997. 早期自動屈曲療法のための新しい屈筋腱縫合法の試み. *日手会誌* **13** : 1135-1138.

Porous L-lactide-caprolactone Copolymer as Anti-adhesion Membrane for Flexor Tendon

Hideaki IMADA

Department of Orthopaedic Surgery, Hiroshima University School of Medicine,
1-2-3 Kasumi, Minami-ku, Hiroshima 734-8551, Japan
(Director: Prof. Yoshikazu IKUTA)

The purpose of this study is to evaluate the effect of porous L-lactide-caprolactone membrane (LLCC membrane) in preventing adhesion of injured flexor tendon and administration of hyaluronic acid solution. Flexor tendon in forepaw of 21 beagle dogs from 8 to 10 kg were lacerated and immediately sutured, and then divided into the following four groups.

LLCC group: sutured site was wrapped with LLCC membrane.

LLCC+HA group: After wrapping with LLCC membrane, hyaluronic acid was dropped around sutured site.

HA group: Hyaluronic acid alone was dropped around sutured site.

Control group: Neither of LLCC membrane and hyaluronic acid were administered.

In all groups, dogs were immobilized for 3 weeks and sacrificed. The severity of tendon adhesions were compared by macroscopic, microscopic and mechanical examination.

LLCC membrane was found to be effective in preventing adhesion around injured flexor tendon, but this membrane delayed the union of sutured tendon, and administration of hyaluronic acid did not improve this problem. Although further research about permeability and degradation of this membrane is necessary to overcome this problem, LLCC membrane has the possibility of ideal anti-adhesive membrane because LLCC is safe, flexible and absorbable material.