

①

ヒアルロン酸ナトリウムの関節軟骨代謝に関する実験的研究  
—早期変形性膝関節症に対するMRI および組織学的検討—

弘前大学医学部整形外科学教室  
大塚 博徳

1 項	緒言(P1)
1 項	実験材料および方法(P1～P3)
3 項	結果(P3～P4)
4 項	考察(P4～P8)
9 項	結語(P9)
10項	文献(P10～P12)
13項	附図説明(P13～P14)



ヒアルロン酸ナトリウムの関節軟骨代謝に関する実験的研究  
—早期変形性膝関節症に対するMRI および組織学的検討—

## I. 緒言

正常軟骨基質および関節液の主要成分であるヒアルロン酸ナトリウム (HA) は、正常な関節機能を維持する上に重要な役割を果たし、関節の病的状態下では抗炎症作用、鎮痛作用、関節軟骨変性抑制作用、修復作用などがあることが知られている。また臨床的に使用されている精製されたHAは、変形性関節症 (OA) や肩関節周囲炎などに広く投与され薬物効果としての抗炎症作用、鎮痛作用はよく知られている。しかし、関節軟骨変性抑制作用と関節軟骨修復作用もあると言われているが、これに関する実験的研究は少ない。また臨床的にはOAに対しての適応は許可され実際に使用されているが、OA予防としての投与は認められていない。

今回の目的は家兎の膝前十字靱帯 (ACL) 切除膝を用いて、前期OA及び早期OAに対してのHA効果についてMRIおよび組織学的に検討することにより、HAの関節軟骨変性抑制作用、修復作用を明らかにすることである。

## II. 実験材料および方法

### 1. 実験動物

体重2.5～2.8Kgの日本白色成熟家兎10匹を用いた。ゲージ内で術後24週飼育した。

### 2. 実験方法

#### 1) ACLの切除

家兎耳介部の静脈に24 gauge (JELCO catheter) を刺入し血管を確保した。ネンブタール (30 mg/kg) 静脈麻酔後、仰臥位にして四肢を手術台に固定した。右膝の周囲を剃毛後、膝蓋骨を中心に皮膚を正中縦切開し、内側傍膝蓋骨切開にて関節切開した。膝蓋骨を外側に脱臼させ膝屈曲位で顆間部を展開し、メスにて関節軟骨を損傷しないようにACLを完全切除した (図1)。膝蓋下脂肪体、関節包、皮膚と順に吸収糸で縫合し、創部はノベクタンスプレーを噴霧した。以上の操作はすべて無菌的に行った。

#### 2) 術後処置

術後は手術肢の外固定や免荷などの処置は行わずゲージ内で放置した。

#### 3) HA関節内注入



### 3) HA関節内注入

#### a) 使用したHA

生化学工業製で、新鮮な鶏冠から抽出し高純度に精製された、分子量約80万のHAを使用した。

#### b) 関節注入方法

右膝をイソジン消毒液にて消毒後、外側膝蓋上嚢に24 gauge注射針を刺入し、吸引による関節液の逆流を認めるか、注入時の抵抗が小さいことで関節内に注射針が入っていることを確認し、HAあるいは対象として生理食塩水を0.1ml/Kg注入した。

#### c) 関節注入開始時期及び回数

以下の如く4群にわけてHA及び対象として生理食塩水を関節内注入施行した。

A群：HAを術後4週経過後から5週にわたって週1回ずつ関節内に注入した群

B群：HAを術後18週経過後から5週にわたって週1回ずつ関節内に注入した群

C群：A群の対象として生理食塩水を関節内に注入した群

D群：B群の対象として生理食塩水を関節内に注入した群

A/B群はそれぞれ3匹ずつ、C/D群はそれぞれ2匹ずつ使用した。

### 4) 検討方法

術後24週経過後、ネンブタール静注で過麻酔により安楽死させて1時間以内にMRIを撮影した。その後、膝関節大腿骨内顆部を摘出し(図2)関節軟骨の病理組織を評価した。

#### a) MRI撮影機種

MR装置は東芝社製MRT-50A2, 0.5Teslaを使用した。

#### b) MRI撮影方法

パルス系列はスピンエコー法でT1強調像とT2強調像を、フィールドエコー法にてT2\*強調像を撮像した。断層面はスライス厚3mmにて矢状断像を用いた。

コイルは3 inchのsurface coilを使用した。

画像評価部位は大腿骨内顆とした。

#### c) 病理組織標本の作製

組織標本は10%ホルマリンで約1週間固定し、Plank Rycklo急速脱灰法にて脱灰後パラフィン包埋した。大腿骨内顆中央部を通る厚さ5  $\mu$ mの薄切片を作製し、hematoxylin-eosin染色(HE染色)、safranin O染色及びtoluidine blue染色を行い光学顕微鏡下に観察した。

#### d) 組織学的観察

上記にて作製、染色した標本を光学顕微鏡下に観察した。

Mankinら<sup>16)</sup>や脇谷ら<sup>29)</sup>の組織学的評価スケールを参考にして独自のスケールを作成し(表1)、HE染色標本でcell morphology(図3)とsurface regularity(図4)、safranin O染色(図5)、toluidine blue染色標本(図6)でmatrix



stainingを評価し点数化した。

### Ⅲ. 結果

#### 1) MRI評価

今回のMRI撮影方法では関節軟骨部分の描出は不能であったため、軟骨下骨の不整や途絶および軟骨下骨髄部分の信号強度によって評価した。

##### a) A群 (図7)

3匹ともに大腿骨内顆部分の軟骨下骨、軟骨下骨髄部分にT1, T2, T2\*強調像いずれにおいても信号強度の異常は認められなかった。

##### b) B群 (図8)

1匹にT1, T2\*強調像で大腿骨内顆の軟骨下骨髄部分に信号強度が低下した部分が認められたが、軟骨下骨の不整は認められなかった。他の2匹の軟骨下骨、軟骨下骨髄部分には異常所見は認められなかった。

##### c) C群・D群 (図9)

2匹にT1, T2, T2\*強調像すべてにおいて大腿骨内顆の軟骨下骨髄部分に信号強度が低下した部分が認められたが、軟骨下骨の不整に関しては明らかではなかった。他の2匹の軟骨下骨、軟骨下骨髄部分には異常所見は認められなかった。

#### 2) 組織学的評価

##### a) A群 (図10)

3匹すべてにsafranin O染色, toluidine blue染色での染色性の低下が軽度認められたが、硝子軟骨細胞自体は保たれており、関節軟骨表面もスムーズであった。組織学的評価スコアでは5点以下を示すものはなかった。

##### b) B群 (図11)

3匹すべてにおいてsafranin O染色, toluidine blue染色での染色性は明らかに低下していた。関節表面のirregularityも2匹に認められ、その2匹には関節軟骨に線維軟骨様組織が認められた。

##### c) C群・D群 (図12)

4匹中2匹は硝子軟骨細胞や関節軟骨表面が比較的良好に保たれていたが、safranin O染色, toluidine blue染色での染色性の低下は明らかであった。他の2匹は関節軟骨の欠損が強く軟骨表面のirregularityが認められ、染色性も著明に低下していた。特にtoluidine blue染色ではほとんど染色されず、評価スコアも0点であった。

#### 小括

MRIでは、関節軟骨そのものの評価が不能であったが、軟骨下骨および軟骨下骨髄



部分の異常所見で評価すると、A群は異常所見を示したものはなく、他の群ではそれぞれ1匹ずつ異常所見を示した。

組織学的評価に置いて（表2）、家兎の数が少ないため評価スコアを統計学的処理を行うことができないが、A群はsafranin O染色、toluidine blue染色での染色性の低下が軽度認められるのみで、他の3群に認められるような硝子軟骨細胞、関節軟骨表面には異常所見が認められなかったことからOA変化が他の群に比べて軽度であると判定した。

MRIの異常所見の有無と関節軟骨の組織学的評価スコアとの相互関係は認められなかった。

以上よりACL切除後早期よりHAを関節内注入したA群が、OA変化がすでに出現したと考えられる時期からHAを注入したB群、対照として生理食塩水を注入したC.D群よりも、OA変化は軽度であると判定した。

#### IV. 総括ならびに考察

関節軟骨は複合組織であり、比較的少数の軟骨細胞とそれを取り囲む軟骨細胞によって合成された多量の軟骨基質によって構成されている。軟骨基質はコラーゲン線維とその間隙を埋めるようにプロテオグリカンと水で構成されている。表層は小型のプロテオグリカンであるデコリンが、中層、深層には大型プロテオグリカンであるアグリカンが多量に存在する。プロテオグリカンはコア蛋白と多数本のグリコサミノグリカンが共有結合して、水分を軟骨基質内に保持する役割を果たしている。OAやRAに代表される関節疾患の初期徴候とはこれら軟骨細胞の代謝障害に伴い、次々と軟骨基質の質的变化を起こし関節退行性変化が生じることであり、生化学的にはプロテオグリカンや水分量の減少が起こる。

HAは軟骨基質内に存在し軟骨細胞マトリックスからのプロテオグリカン遊離抑制作用をもち、その他に滑膜からのプロスタグランジンE<sub>2</sub>の産生抑制、炎症細胞の遊走抑制などの作用がin vitroの試験で証明されている<sup>7)10)</sup>。また精製されたHAは、OA・慢性関節リウマチに代表される関節疾患の関節退行変性に対する関節腔内投与による薬物療法で臨床の場で広く用いられその高い有用性が認められ、抗炎症作用、鎮痛作用、関節軟骨変性抑制作用、関節軟骨修復促進作用があるといわれている。

鎮痛作用については後藤ら<sup>3)</sup>がラットの実験的関節疼痛モデルにHAを投与した実験にて、対照薬の高分子量高粘性物質やムコ多糖体多硫酸エステルには認められない鎮痛作用があることを証明しており、高分子量HA特有の立体分子構造が関与していることを推察している。

また、関節軟骨の修復促進作用に関しては、岩田ら<sup>9)</sup>のパパインで処理した家兎の膝関節内にHA投与した実験や、伊勢亀ら<sup>8)</sup>の外科的に作成されたラット膝関節軟骨損傷に対するHAの関節腔内投与の実験をはじめとした動物実験で証明されている。



臨床的にもOA膝に対するHA投与の効果についての報告は、鎮痛作用をはじめとした臨床効果に関して、あるいは関節鏡所見、MRI所見、修復組織の病理組織学的所見の変化に関しての多くの報告がある<sup>22)26)27)</sup>。

今回、HAのもう1つの作用である関節軟骨変性抑制に関しての効果を明らかにする目的で、成熟家兎膝関節のACL切除を行い、OAが進行していく条件下でHA関節内投与し関節軟骨にどのような影響がみられるかを検討した。星<sup>6)</sup>の実験で早期OA変化がMRIでとらえることが可能であることが実証されており、HAの関節軟骨に対する影響をMRIでとらえることが可能かどうかとも検討した。

#### 1) HAの関節軟骨変性抑制について

関節軟骨変性抑制作用については、豊島<sup>28)</sup>の家兎の膝関節滑膜切除モデルを用いた実験がある。それによると家兎膝関節は滑膜切除によって経時的にsafranin O染色、toluidine blue染色での染色性の低下が認められ、荷重部分ではfibrous cartilage様となりtidemarkの消失が見られるが、HAを滑膜切除後2日目より週2回関節内投与することによって、safranin O染色、toluidine blue染色での染色性の低下は完全に抑制することは出来ないものの、正常関節軟骨の形態は保つことが出来るとしている。

safranin O染色、toluidine blue染色法はプロテオグリカン多糖であるコンドロイチン硫酸が陰性荷電を持っているために染色される陽イオン染色法であり、コンドロイチン硫酸のもつ陰性荷電を定量的に描出することが可能である<sup>24)</sup>。つまり軟骨基質の変性のある程度定量化していることになる。

豊島の実験は、関節症モデルの作成方法が今回のACL切除によるものとは違うが、HAの変性抑制作用効果を組織学的に評価する点では類似している。本実験でも、ACL切除後早期よりHAを関節内注入したA群において、safranin O染色、toluidine blue染色での染色性の低下は認められたものの、硝子軟骨細胞や関節軟骨のsurface regularityは保たれており、豊島の実験結果と一致する。しかし、HAを産生する滑膜切除後に生じる変性変化に対してのHAの投与と、ACL不全によって生じる変性変化に対してのHA投与とでは、自ずから実験系は異なる。滑膜切除による変性は正常な関節液の産生が抑制されている状態下でのもので、関節軟骨全体に線維性変化が認められ浸蝕性破壊像が全く認められないことなどから、OA変化と類似の変化とは考えにくい。それに対し今回のACL切除モデルは、二次性OAはじめ一次性OA変化に非常に類似した変性過程やパターンを示すと考えられる。本実験で認められたHAの病理組織学的な変性抑制作用は、OA発症の予防的投与に効果があることを証明するものであり、新しいHA関節腔内投与療法の確立を示唆するものと考ええる。

#### 2) 線維軟骨様組織について

OA変化がすでに出現したと考えられる時期からHAを注入したB群において、関節軟骨に線維軟骨様組織が2匹に認められた。この線維軟骨様組織が修復によって認められた組織であるのか変性によって生じた組織であるのかは、今回の実験では明らか



かにすることが出来なかった。

従来より修復組織が硝子軟骨である関節軟骨で修復されるのか、あるいは線維軟骨で修復されるのかは議論のあるところであり、その多くは光学顕微鏡的観察によるものであった<sup>5)17)</sup>。線維軟骨と硝子軟骨は、前者は基質に膠原線維が観察されることから、後者は観察されないことから分類されてきたが、硝子軟骨にも線維成分が存在するとされており、両者を判別し修復の組織の性状を述べるに当たっては、その膠原線維の形態ならびに線維構築の検索が必要である。久保<sup>14)</sup>の家兎を用いた関節軟骨修復過程における電子顕微鏡による観察では、再生関節軟骨は硝子軟骨と線維軟骨の両者の性質を示す組織であると報告されている。

生化学的に線維軟骨と硝子軟骨では、コラーゲン分子種に違いがあり、前者はtype I コラーゲンが、後者はtype II コラーゲンがしめるとされている。Furukawa<sup>2)</sup>らは、生化学的検索においても修復組織が硝子軟骨へ経時的に移行するが、損傷後4-8週においても修復組織が硝子軟骨で完全には置換されないことを示している。

先に述べたように、豊島<sup>28)</sup>は家兎の滑膜切除膝における関節軟骨変化の実験で、正常な関節液の産生が抑制されている条件下で、関節軟骨にfibrous change (関節軟骨細胞の線維芽細胞形態への変化)が起こったことを、光顕、電顕で観察している。Schiavinato<sup>25)</sup>は犬のACL切除膝の関節軟骨にfibroblastlike cell layerが認められたと報告している。また、窪川は<sup>13)</sup>、ヒト膝のOA関節軟骨を抗コラーゲン抗体、抗プロテオグリカン抗体、抗フィブロネクチン抗体を用いて免疫学的に観察した実験で、初期OAでの修復機転として形成される軟骨基質は、硝子軟骨と異なり線維軟骨の様相を呈すると結論している。以上述べたように文献的にも線維軟骨様細胞は、修復組織、変性組織の両者として認められる可能性がある。これを明らかにするには、今回の実験方法に加えて、HA投与直前と投与回数別による組織像の検討をすることが有用ではないかと考えられた。

もし、この線維軟骨様組織が修復組織だとしても、臨床的にはその組織の性質が問題となる。Mitchellら<sup>18)</sup>は、家兎を用いた実験で、損傷後2カ月で認められる硝子軟骨よりなる修復組織は、損傷後8カ月でsafranin Oの染色性が低下し、損傷後12カ月では緻密線維結合組織に変化し、線維化も認められると報告している。また、久保<sup>14)</sup>の家兎を用いた関節軟骨修復過程における電子顕微鏡による観察でも、修復組織の経時的変性変化が認められたと述べている。以上より、修復された組織は変性しやすいという点で問題があり、その様なことから関節軟骨が変性しないように予防することが重要であるといえる。

### 3) MRI評価について

早期の関節軟骨面の変化を知るためには関節鏡による検査が最も有用であるが、手術操作であるため侵襲を加えることになり繰り返し行うことは临床上は一般的には不可能なことである。これに対しMRIは膝関節軟骨面のみでなく全体的な所見をとらえ



えることができ、また非侵襲性であるという利点を持っている。しかし、現在臨床的にMRIで診断できる範囲は、靱帯損傷、半月板損傷、急性期の骨挫傷 (bone bruise)、関節液の貯留、進行したOA変化などについてであり、partial thickness の軟骨損傷や早期OA変化に関しての診断はまだ難しいとされている<sup>21)</sup>。日下ら<sup>1)15)</sup>は、マンガンイオン (以下 $Mn^{2+}$ ) を関節内に投与し、グリコサミノグリカンと相互作用させてMRI撮影することによって、関節軟骨のグリコサミノグリカンの分布そのものがMRIでとらえることができるため、MRIで関節軟骨の生化学的变化を知ることができると報告している。しかし、 $Mn^{2+}$  投与することによってマンガン中毒を生じる可能性があること、使用しているMRI機種が実験用の高感度MRI機種であることなどから臨床応用に関しては難しいと考える。現在臨床的にはグラジエントエコー法 (GRASS, FLASH, フィールドエコー法など) 撮影による $T2^*$ 強調像で関節軟骨病変が評価できるとされており<sup>12)</sup>、今回の実験でもスピンエコー法の $T1$ 強調像、 $T2$ 強調像の他にフィールドエコー法にて $T2^*$ 強調像を撮像した。しかし、臨床用のMRI装置を用いたこと、家兎の膝関節が小さく関節軟骨が薄いことなどから、関節軟骨そのものをMRI画像として捕らえて評価することはできなかった。従って、従来通り関節軟骨下骨および関節軟骨下骨髄の信号変化を関節軟骨の障害として評価することにした。

今回の実験結果では、MRIで軟骨下骨の不整や欠損を認めたモデルはなかった。MRIで軟骨下骨に不整や欠損が認められるのは軟骨損傷が軟骨下骨までおよんでいる full thickness lesion の場合であるといわれている<sup>4)</sup>。今回の実験の組織学的評価では軟骨下骨までの損傷がなかったことから、MRIによる軟骨下骨像の評価と組織学的評価は一致していたと思われる。

軟骨下骨髄部分の信号強度が低下したモデルが3匹認められたが、組織学的評価スコアとは相互関係が認められなかった。OA発症機序として軟骨病変と軟骨下骨病変どちらが先行するか現在も議論が多い部分である。Radin<sup>23)</sup>らは軟骨下骨の stiffness がOA発症の成因として大きな役割を果たしているとしている。また、Konig<sup>12)</sup>らの豚の膝でのOAに関するMRI評価の実験では、MRI上軟骨下骨髄部分の異常信号がX線より早期に認められると報告している。星<sup>6)</sup>の家兎実験ではACL切除後3カ月で組織学的OA変化は認められるが、その変化はMRIでは認められず、関節軟骨内にとどまるOA変化をMRIで評価することは困難であるとしている。今回の実験モデルのOA変化は組織学的評価ですべて関節軟骨内にとどまっていることからMRI評価の信頼度は低く、MRIでのHAの効果は判定できなかったと考える。

HAの作用は過去の報告では関節内におけるものであり、軟骨下骨髄には直接作用しないと考えれば、高感度のMRI装置を用いてHAの関節軟骨に対する効果判定を可能にすることによって、OA発症機序が軟骨病変と軟骨下骨病変どちらが先行するかの問題の解決につながるのではないかと考えられた。



#### 4) 本研究と臨床例との関連について

临床上陳旧性ACL損傷例は若年者であっても、X線検査では骨棘形成、軟骨下硬化像が認められ、MRIでは関節軟骨下骨髓部分の信号強度の低下を認める。また、ACL再建術時の関節鏡所見に置いても関節軟骨の欠損やfibrillationなどのOA変化が高率に認められる。この様に若年者でOA変化が認められるような症例はスポーツ選手をはじめとした活動性の高い症例が殆どである。今回の実験でOA変化が認められる前に早期にHAを投与したA群は、OA変化の進行を抑えることができHAの予防効果があったと判定したが、活動性に関しては臨床例に比較すると非常に少なく、活動性の高い症例に対してのHAのOA変化進行予防に関しては疑問が残る。

また、臨床例では夏山<sup>19)</sup>の報告にあるように、ACL断裂のOA変化は半月板損傷が先行するといわれている。しかし星<sup>6)</sup>は、半月板損傷なく関節軟骨のOA変化が認められ軟骨変性が半月板損傷に先行すると考えるが、更なる検討が必要であると考察している。今回の実験では半月板に対しての評価は行わなかったが、臨床的にはHA投与が半月板の変性の予防あるいは断裂予防になるのかということも重要になってくると考える。

#### 5) HA関節内投与に関する今後の展望

関節軟骨は変性や損傷が起こった場合、その程度に関係するが、一般に修復機転が起りにくく、修復したとしてもその組織は完全な関節軟骨ではなく変性を起こしやすい。そのようなことから関節軟骨損傷に対しては、骨膜・軟骨膜移植、関節軟骨細胞移植など関節軟骨の完全な修復を目的とした観血的治療も盛んに行われてきている<sup>20)29)</sup>。保存的治療として最近では、成長因子が関節軟骨の修復に有利に作用するとの報告が散見され<sup>11)</sup>、今後の研究の進展が期待されている。また、今回実験に使用したHAの分子量約80万より大きい分子量約190万のHAが開発され、損傷軟骨に対する関節内投与に置いてはその更なる有用性が報告されている<sup>8)</sup>。しかし、先にも述べたように修復される組織は完全な関節軟骨では無いことから、関節軟骨の損傷あるいはOA変化の予防が今後はさらに重要視されるべきであると考ええる。

ACL損傷の場合、関節軟骨の損傷あるいはOA変化の予防として多くはACL再建術が選択され、安定した治療方法となっている。しかし、ACL再建術後高いレベルでスポーツを続けている症例や半月板切除を施行せざるをえなかった症例に、X線上OAの進行を認める。また、ACL損傷後から再建術までの期間に活動レベルを下げることでできない症例にも遭遇する。そのような症例に対してのOA変化の進行予防としてHA関節内注入は施行されて良い方法と考えられる。高分子量のHAの出現も含めて、临床上のOA進行予防関節腔内投与の確立が期待される。



## V. 結語

- 1) 家兎のACL切除膝を用いて、前期OA及び早期OAに対してのHA効果についてMRIおよび組織学的に検討した。
- 2) 組織学的検討により、HAのOA進行抑制効果が示唆された。
- 3) 今回の実験ではMRIでHA効果の判定は不可能であった。しかし、HA効果をMRIで検討することによって、OA発症機序が軟骨病変と軟骨下骨病変どちらが先行するかの問題の解決につながるのではないかと考えられた。
- 4) 臨床上もOA変化の進行予防としてHA関節内注入は施行されて良い方法と考えられた。

稿を終えるにあたり、ご指導、後校閲を賜りました弘前大学医学部整形外科学教室原田征行教授、岡村良久講師および青森県立整形外科副部長星忠行先生に甚大なる感謝の意を表します。また写真、標本作製にご協力くださいました病理細菌技術員蒔苗清蔵氏、実験助手佐藤行人氏に厚くお礼申し上げます。



## 文献

- 1) 藤岡幹浩：MRIにおける画像強調を用いた関節軟骨の変性度の評価に関する基礎的研究．京府医大誌，103：1353-1367，1994.
- 2) Furukawa, T., et al. : Biochemical studies on repair cartilage resurfacing experimental defects in the rabbit knee. J. Bone Joint Surg., 62-A: 79-89, 1980.
- 3) 後藤幸子ほか：ラットにおける実験的関節疼痛モデルとヒアルロン酸ナトリウムの鎮痛作用．日薬理誌，92：17-27，1988.
- 4) 半田哲人：屍体膝を用いたMRIの検討．日整会誌，65：S1286，1991.
- 5) 廣谷速人：関節軟骨の損傷と修復：整形外科，36：723-730，1985.
- 6) 星 忠行ほか：家兎前十字靱帯切断膝における早期変形性関節症変化のMRI像．中部整災誌，37：81-82，1994.
- 7) 伊勢亀富士朗ほか：ヒアルロン酸のビーグル犬におけるブラジキニン関節疼痛抑制作用．関節外科，13(4)：7-14，1994.
- 8) 伊勢亀富士朗ほか：損傷関節軟骨の修復における関節腔内投与ヒアルロン酸の役割．関節外科，13：761-771，1994.
- 9) 岩田 久ほか：パパインで処理された関節軟骨に対するヒアルロン酸ナトリウムの作用．関節の外科，19：31-36，1992.
- 10) 岩田 久：変形性関節症に対するヒアルロン酸注入療法．リウマチ，34：1005-1012，1994.
- 11) 神宮司誠ほか：軟骨修復と成長因子．関節外科，14：941-947，1995.
- 12) Konig, H., et al. : Quantitative evaluation of hyaline cartilage disorders using FLASH sequence. Acta Radiologica. 31: 371-375, 1990.
- 13) 窪川経茂：変形性関節症における関節軟骨の破壊機構に関する研究：日整会誌，68：415-425，1994.



- 14) 久保俊一：ラット関節軟骨損傷後の修復過程における電子顕微鏡学的研究：日整会誌，57：167-185，1983.
- 15) Kusaka Y., et al. : MR microimaging of articular cartilage and contrast enhancement by manganese ions. *Magn. Reson. Med.* 24: 137-148, 1992.
- 16) Mankin, H. J., Dorfman, H. and Lippiello, L. : Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteo-arthritic human hips. II. Correlation of morphology with biochemical and metabolic data. *J. Bone Joint Surg.*, 53-A : 523-537, 1971.
- 17) Mankin, H. J. : The response of articular cartilage to mechanical injury. *J. Bone Joint Surg.*, 64-A : 460-466, 1982.
- 18) Mitchell, N., et al. : The resurfacing of adult rabbit articular cartilage by multiple perforations through the subchondral bone. *J. Bone Joint Surg.*, 58-A: 230-233, 1976.
- 19) 夏山元伸ほか：犬膝前十字靱帯切離後の関節鏡視。関節鏡，15：139-143，1990.
- 20) O'Doriscoll, S. W., et al. : The repair of major osteochondral defects in joint surface by neochondrogenesis with autogenous osteoperiosteal grafts stimulated by continuous passive motion. *Clin. Orthop.*, 208: 131-140, 1986.
- 21) 岡村良久ほか：軟骨損傷・修復の画像診断。関節外科，14：949-957，1995.
- 22) 大島良雄ほか：肩関節周囲炎に対する高分子量ヒアルロン酸ナトリウム（SPH）の関節腔内注射療法。薬理と治療，15：1321-1336，1987.
- 23) Radin, E. L., et al. : Role of subchondral bone in the initiation and progression of cartilage damage. *Clin. Orthop.*, 213: 34-40, 1986.
- 24) Rosenberg, L. : Chemical basis for the histological use of safranin O in the study of articular cartilage. *Histochem. J. Bone Joint Surg.*, 53-A : 69-82, 1971.
- 25) Schiavinato, A., et al. : Intraarticular sodium hyaluronate injections in the Pond-Nuki experimental model of osteoarthritis in dogs. *Clin. Orthop.*, 241: 286-299, 1989.



- 26) 新名正由ほか：変形性関節症に関する高分子量ヒアルロン酸ナトリウムの注入療法．  
膝，9：103-113，1983．
- 27) 鈴木 愉：変形性関節症に対する高分子量ヒアルロン酸ナトリウム（アルツ）の使  
用による関節鏡所見：薬理と治療，20：4243-4250，1992．
- 28) 豊島弘道：実験的滑膜切除後の関節軟骨変性とヒアルロン酸の変性抑制効果に関する  
研究：東女医大誌，48：890-910，1978．
- 29) 脇谷滋之：軟骨細胞移植．関節外科，14：975-981，1995．



## 附図説明

### 図1: ACLの切除

- a) ACLの切除前   b) ACLの切除後

### 図2: 膝関節大腿骨内顆部の摘出

### 図3: Cell morphology scale (HE染色 x400)

- a) score 2: ほとんどの硝子軟骨細胞が保たれている.  
b) score 1: 線維軟骨様組織が認められる (硝子軟骨細胞の線維芽細胞形態への変化).  
c) score 0: 関節軟骨欠損が強く, 軟骨細胞がほとんど認められない.

### 図4: Surface regularity scale (HE染色 x200)

- a) score 2: smooth  
b) score 1: moderate  
c) score 0: irregular

### 図5: Matrix staining scale (Safranin O染色 x200)

- a) score 2: 関節表層から深部まで十分に染色されている.  
b) score 1: 関節表層の染色性の低下が認められる.  
c) score 0: 深部までの染色性の低下が認められる.

### 図6: Matrix staining scale (Toluidine blue染色 x200)

- a) score 2: 関節表層から深部まで十分に染色されている.  
b) score 1: 関節表層の染色性の低下が認められる.  
c) score 0: 深部までの染色性の低下が認められる.

### 図7: A群のMRI

- a) T1強調像   b) T2強調像   c) T2\*強調像  
いずれにおいても信号強度の異常は認められない.

### 図8: B群のMRI

- a) T1強調像   b) T2強調像   c) T2\*強調像  
T1, T2\*強調像で軟骨下骨髄部分に信号強度の低下した部分が認められる.

### 図9: C・D群のMRI

- a) T1強調像   b) T2強調像   c) T2\*強調像  
T1, T2, T2\*強調像で軟骨下骨髄部分に信号強度の低下した部分が認められる.



図10: A群の組織像 (評価スコア6点)

- a) 硝子軟骨細胞は保たれており, 軟骨表面もスムーズである. (HE染色 x 200)
- b) 軽度の染色性の低下を認める. (Safranin O染色 x 200)
- c) 軽度の染色性の低下を認める. (Toluidine blue染色 x 200)

図11: B群の組織像 (評価スコア3点)

- a) 関節軟骨表面はスムーズであるが, 線維軟骨様組織で置換されている.  
(HE染色 x 200)
- b) 明らかな染色性の低下を認める. (Safranin O染色 x 200)
- c) 明らかな染色性の低下を認める. (Toluidine blue染色 x 200)

図12: C・D群の組織像 (評価スコア0点)

- a) 関節軟骨の欠損が著明で, 軟骨表面もスムーズでない. (HE染色 x 200)
- b) 明らかな染色性の低下を認める. (Safranin O染色 x 200)
- c) ほとんど染色されない. (Toluidine blue染色 x 200)



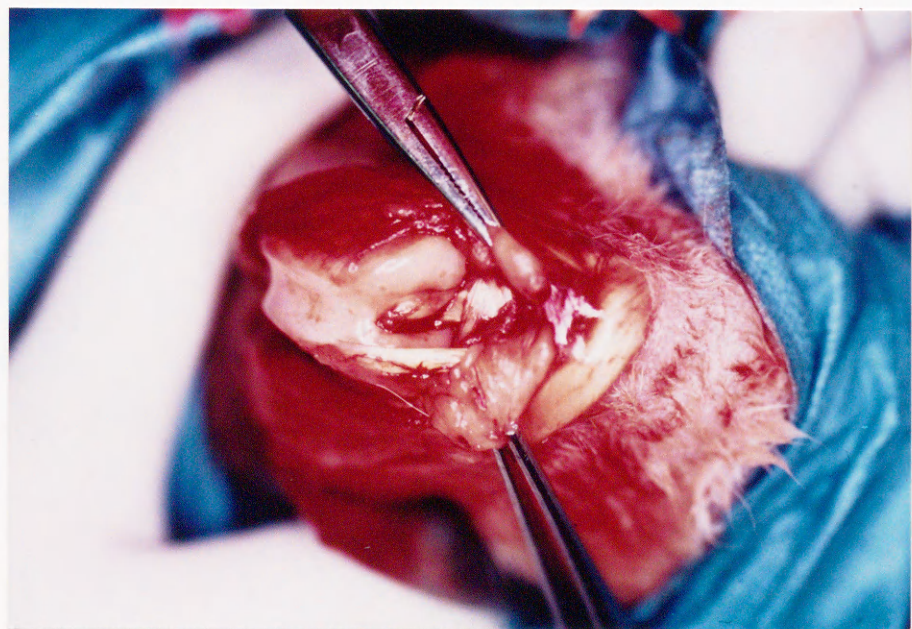
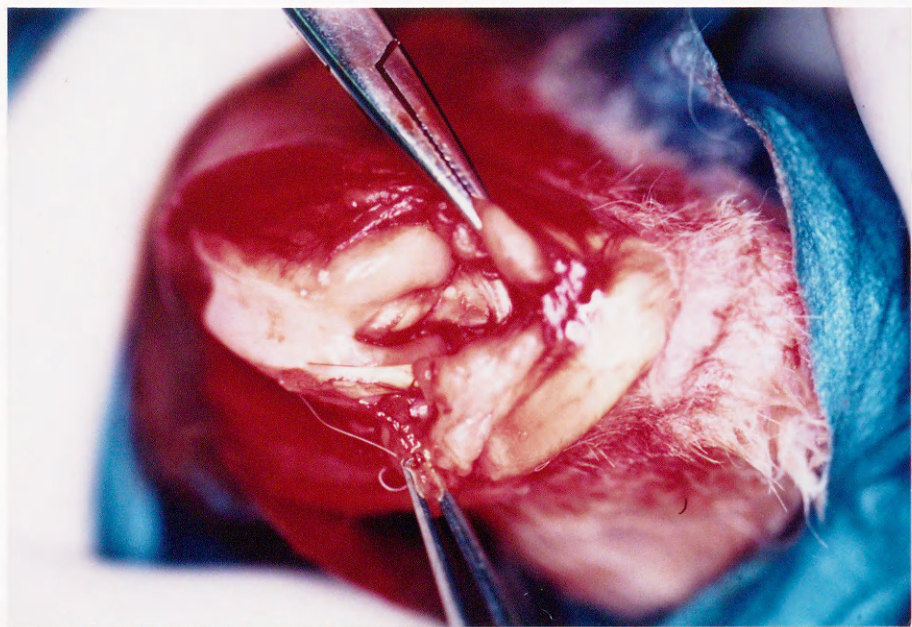
**a****b**

図1 ACLの切除

a) ACLの切除前 b) ACLの切除後



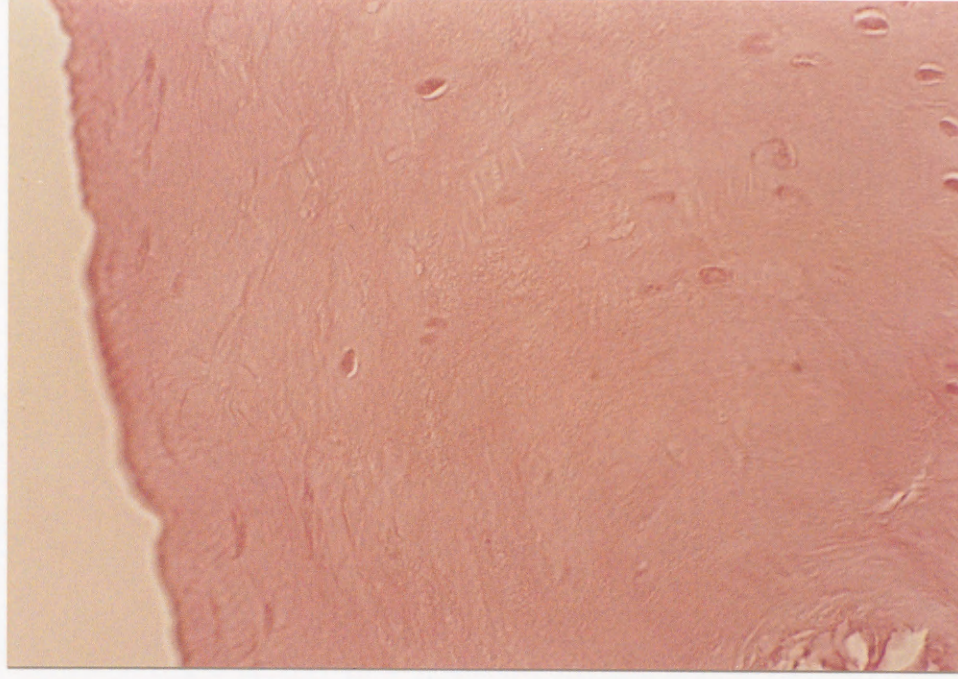


図2 膝関節大腿骨内顆部の摘出

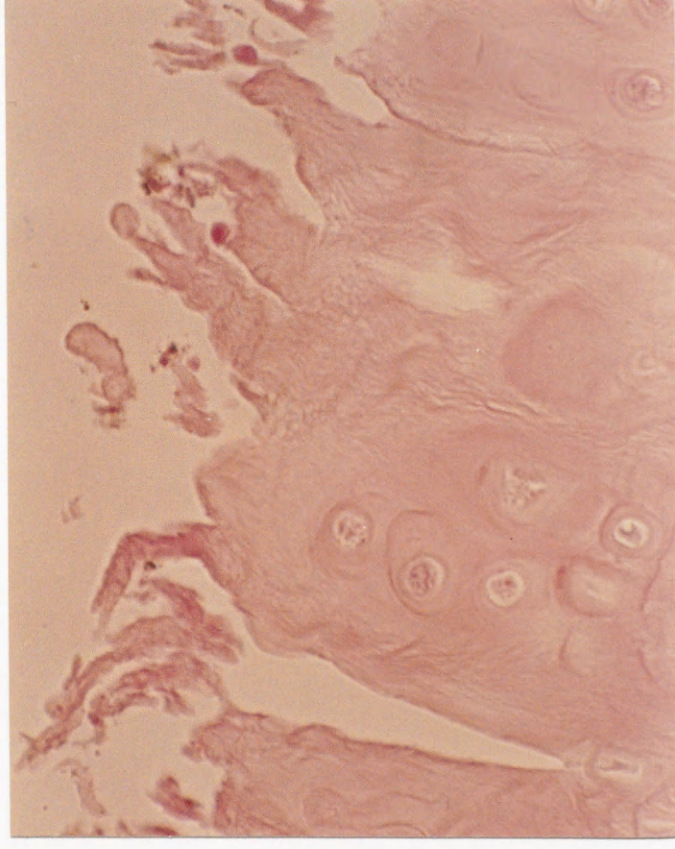




**a**



**b**



**c**

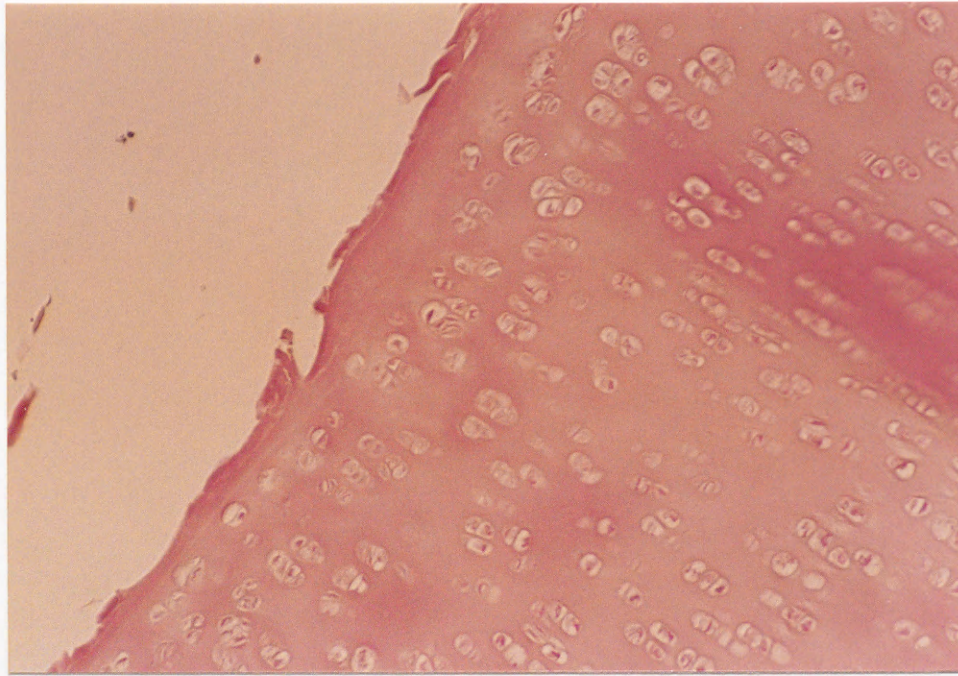
図3 Cell morphology scale (HE染色 x 400)

- a) score 2: ほとんどの硝子軟骨細胞が保たれている.
- b) score 1: 線維軟骨組織が認められる (硝子軟骨細胞の線維芽細胞形態への変化).
- c) score 0: 関節軟骨欠損が強く, 軟骨細胞がほとんど認められない.

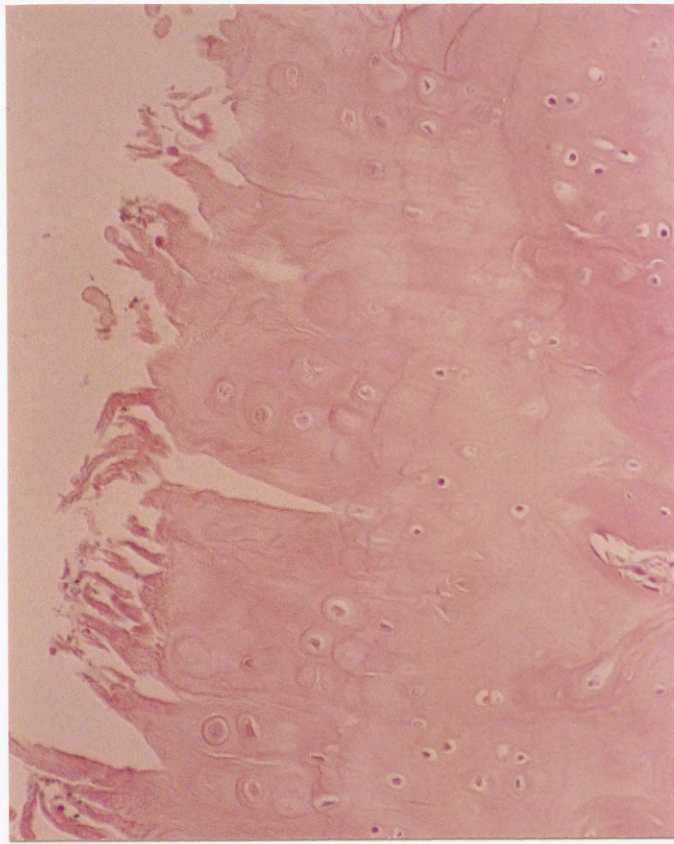




**a**



**b**

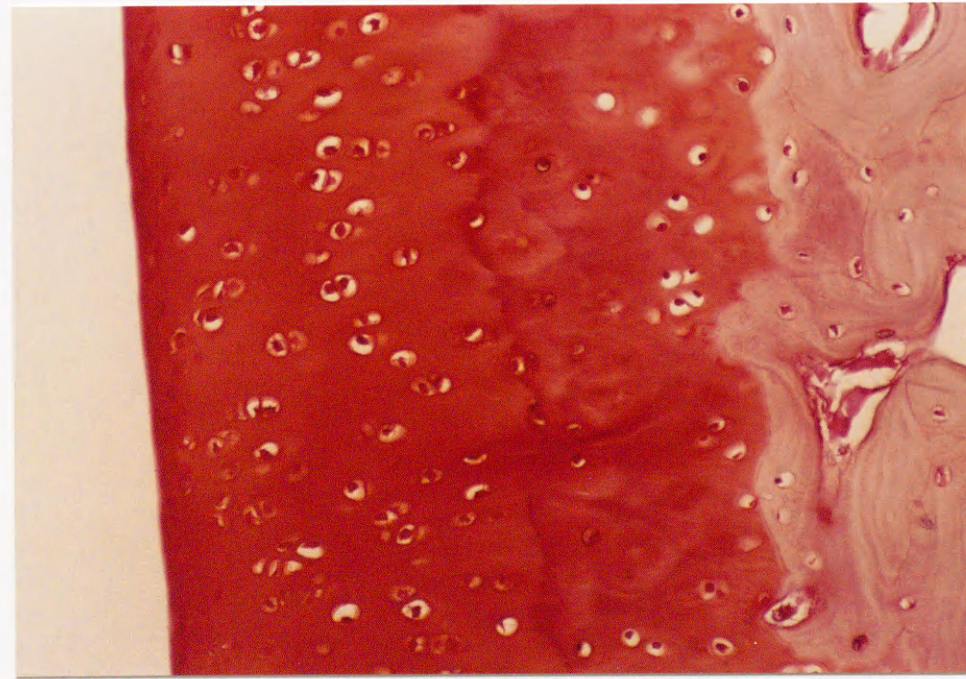


**c**

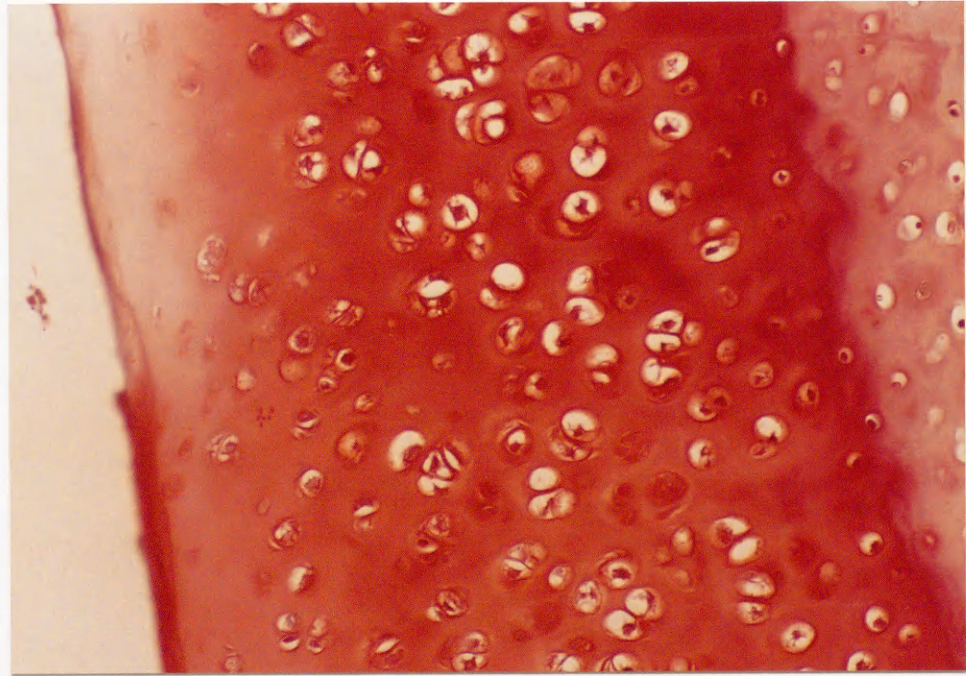
图4 Surface regularity scale (HE染色 x 200)

- a) score 2 : smooth
- b) score 1 : moderate
- c) score 0 : irregular

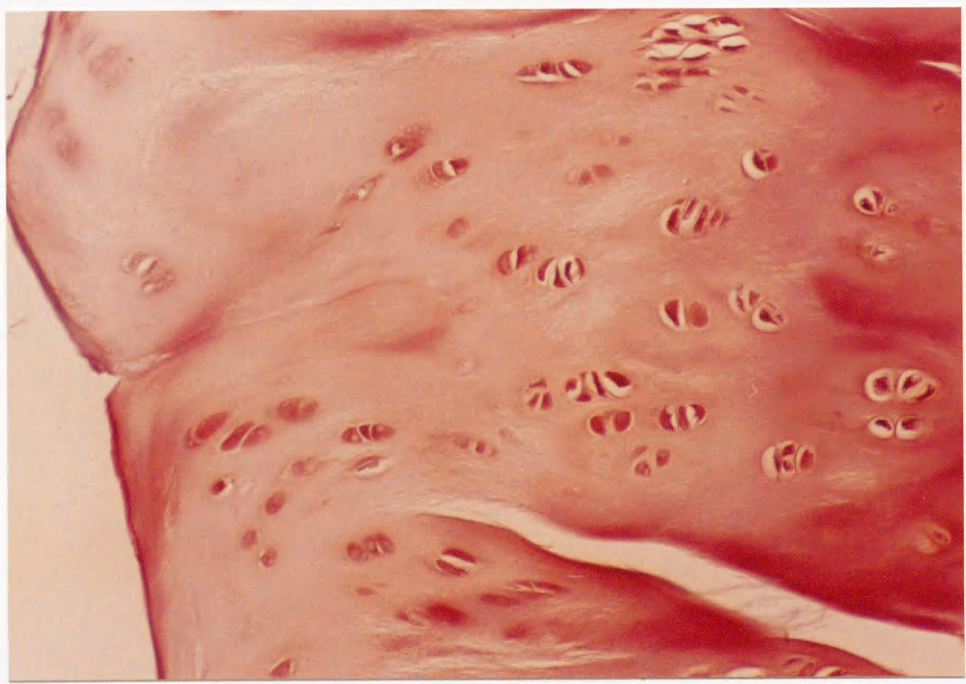




a



b



c

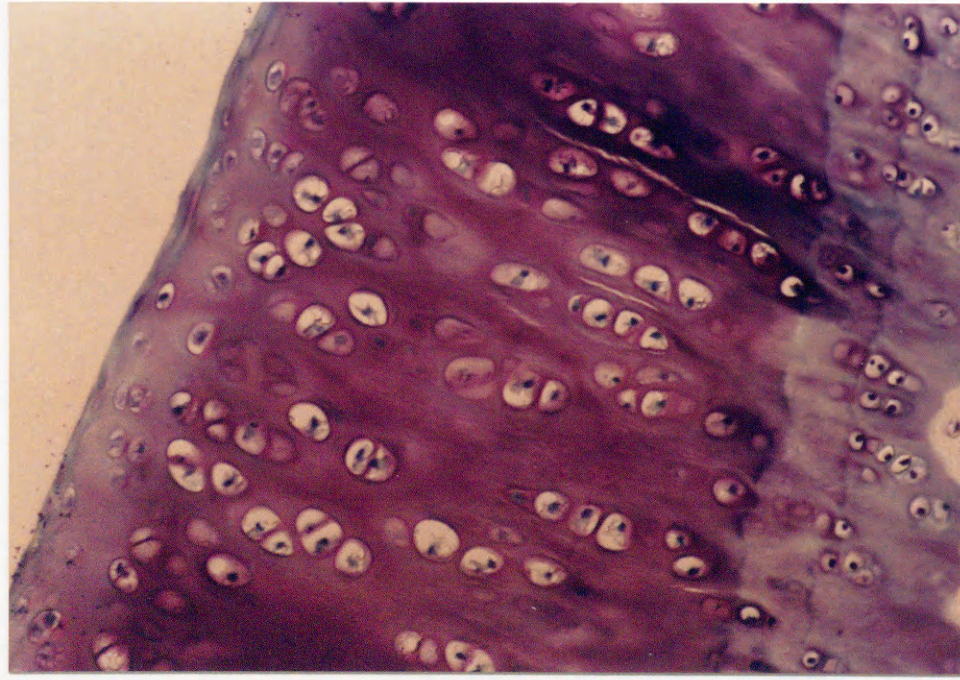
図5 Matrix staining scale (Safranin O染色 x 200)

a) score 2: 関節表層から深部まで十分に染色されている。

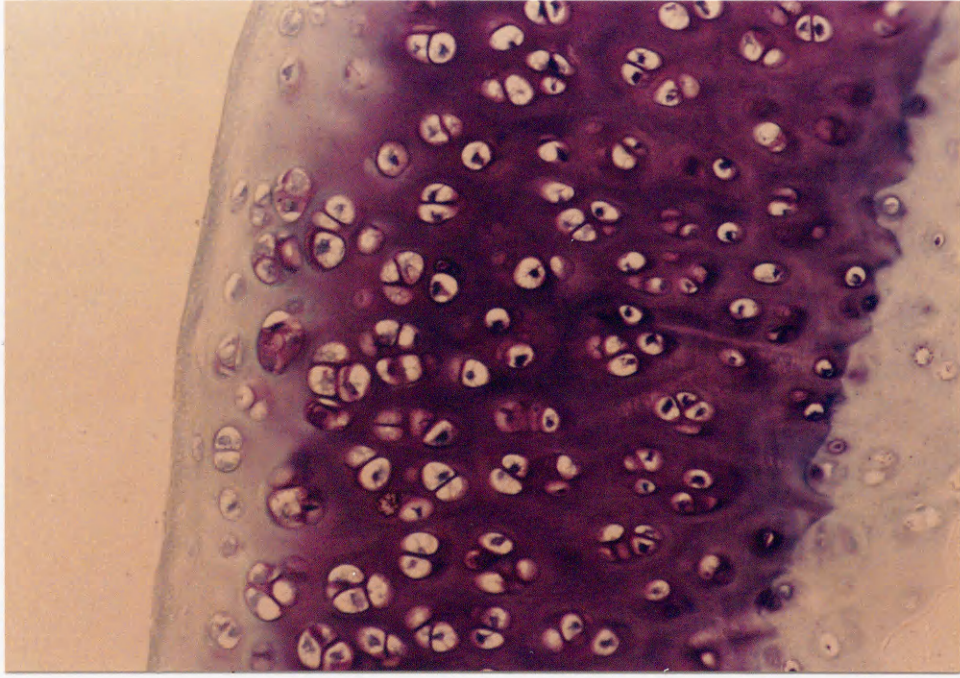
b) score 1: 関節表層の染色性の低下が認められる。

c) score 0: 深部までの染色性の低下が認められる。

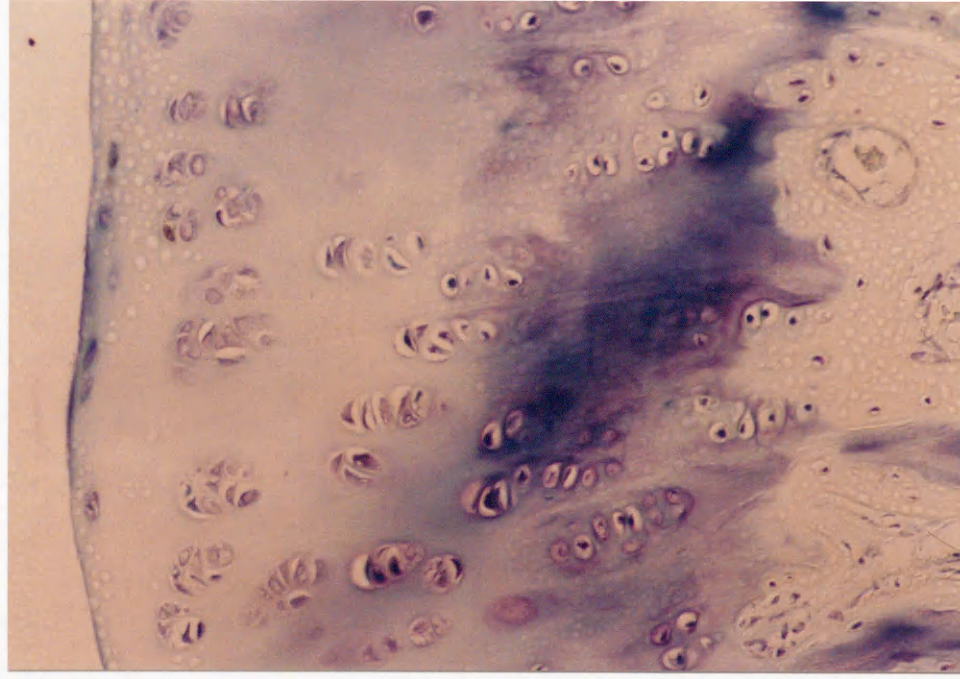




a



b

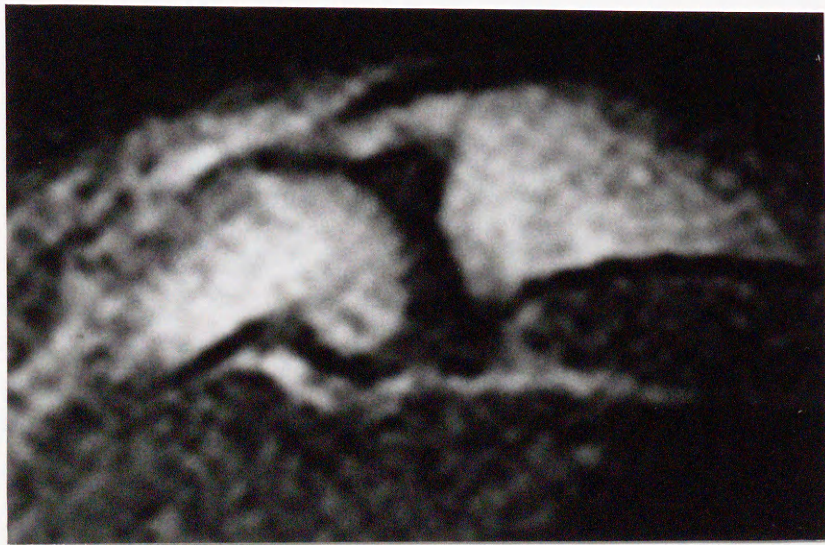


c

図6 Matrix staining scale (Toluidine blue染色 x200)

- a) score 2: 関節表層から深部まで十分に染色されている.
- b) score 1: 関節表層の染色性の低下が認められる.
- c) score 0: 深部までの染色性の低下が認められる.





a



b



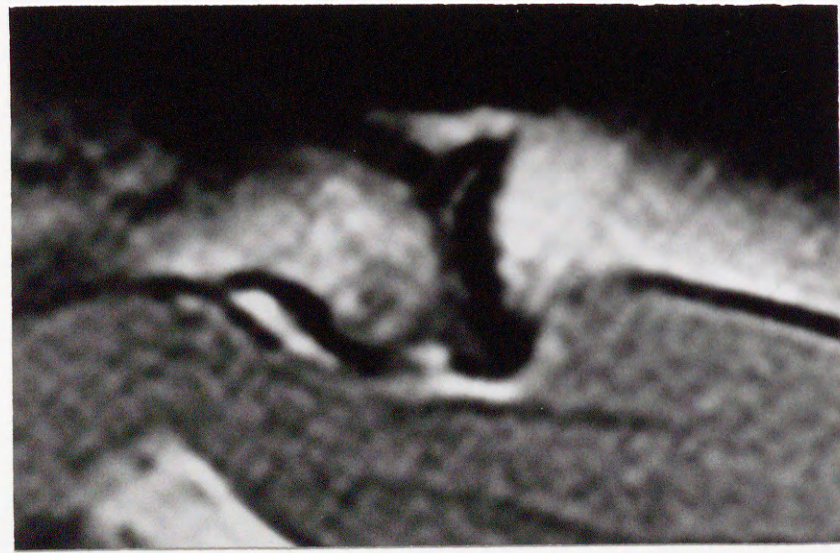
c

図7 A群のMRI

a) T1強調画像 b) T2強調画像 c) T2\*強調画像

いずれに置いても信号強度の異常は認められない。





a



b



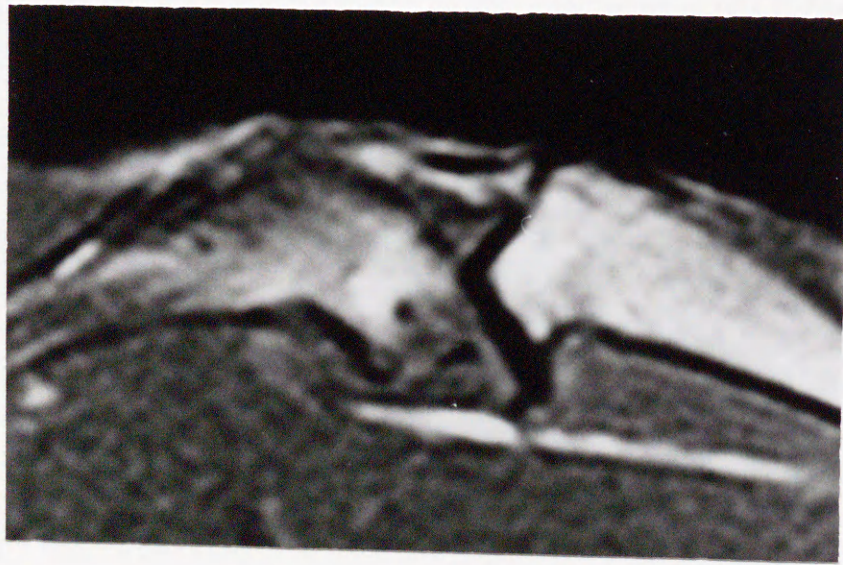
c

図8 B群のMRI

a) T1強調画像 b) T2強調画像 c) T2\*強調画像

T1, T2\*強調画像で軟骨下骨髄部分に信号強度の低下した部分が認められる。





a



b



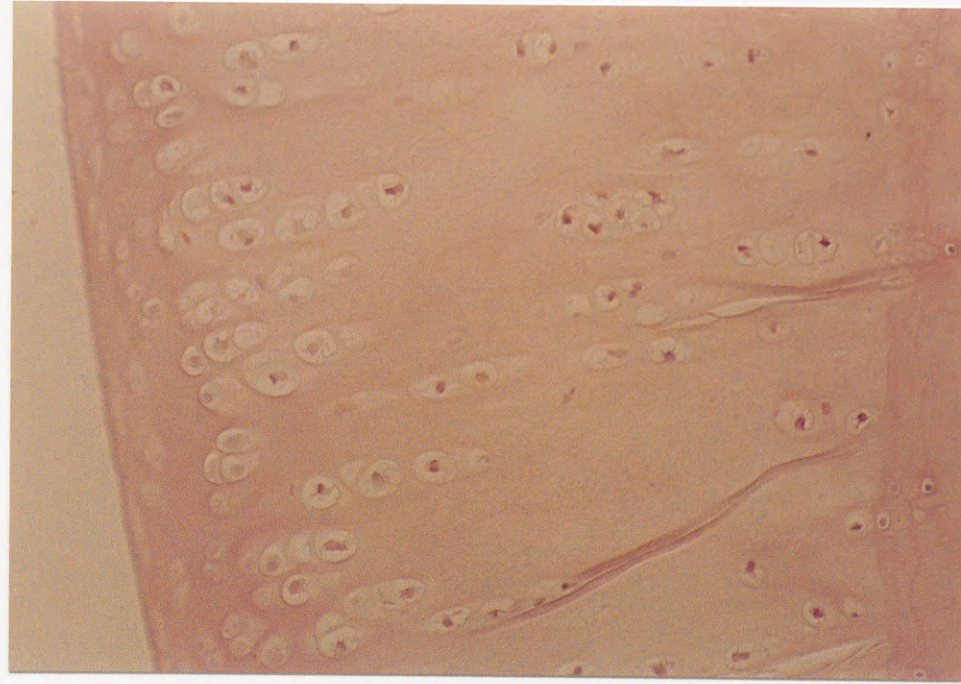
c

図9 C・D群のMRI

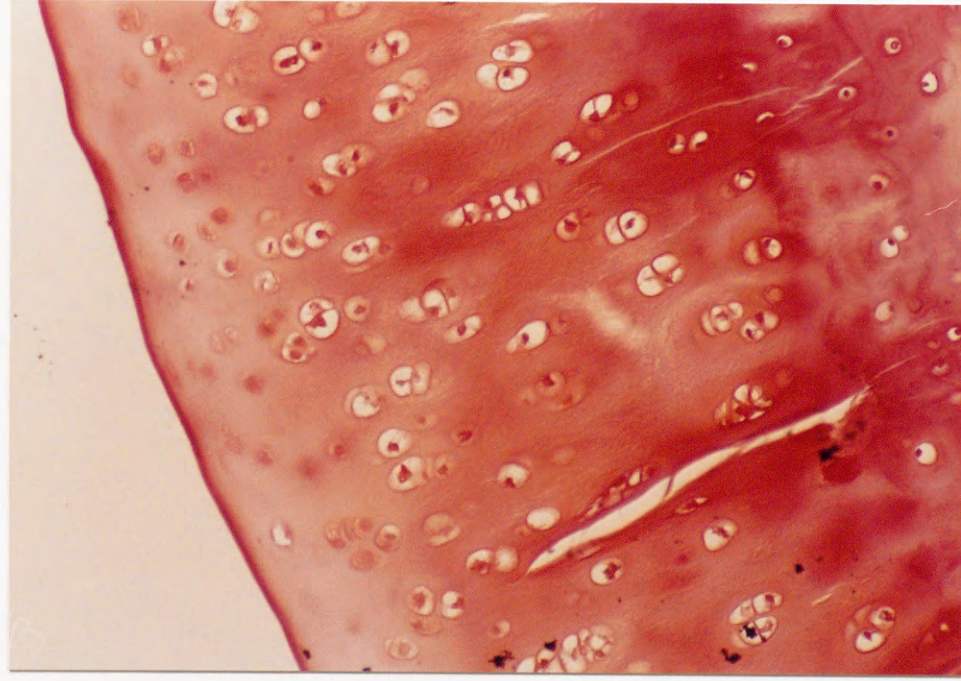
a) T1強調画像 b) T2強調画像 c) T2\*強調画像

T1, T2, T2\*強調画像で軟骨下骨髄部分に信号強度の低下した部分が認められる。

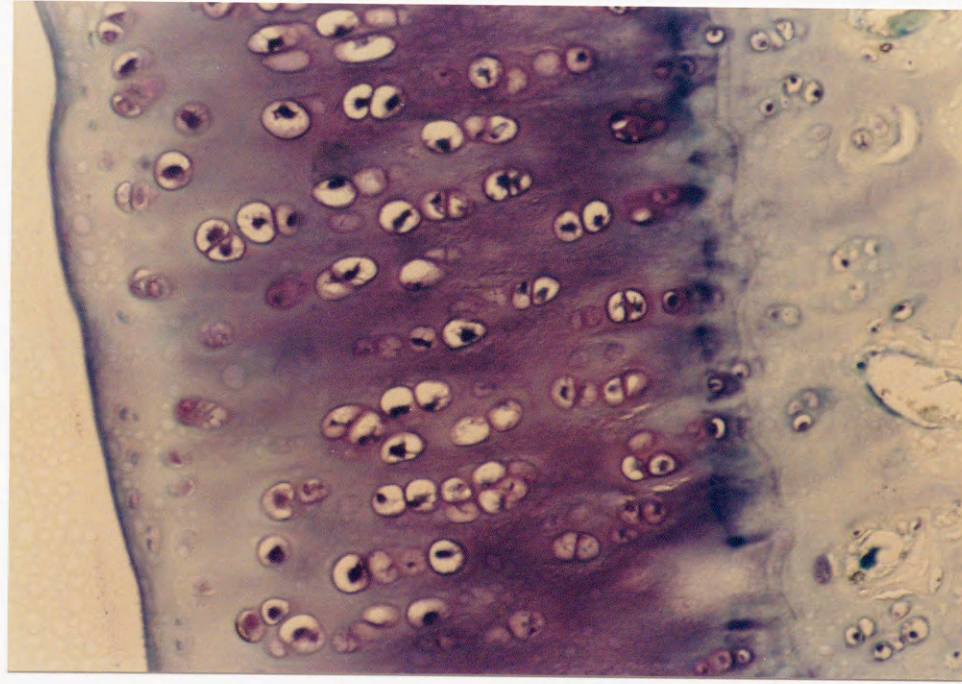




**a**



**b**

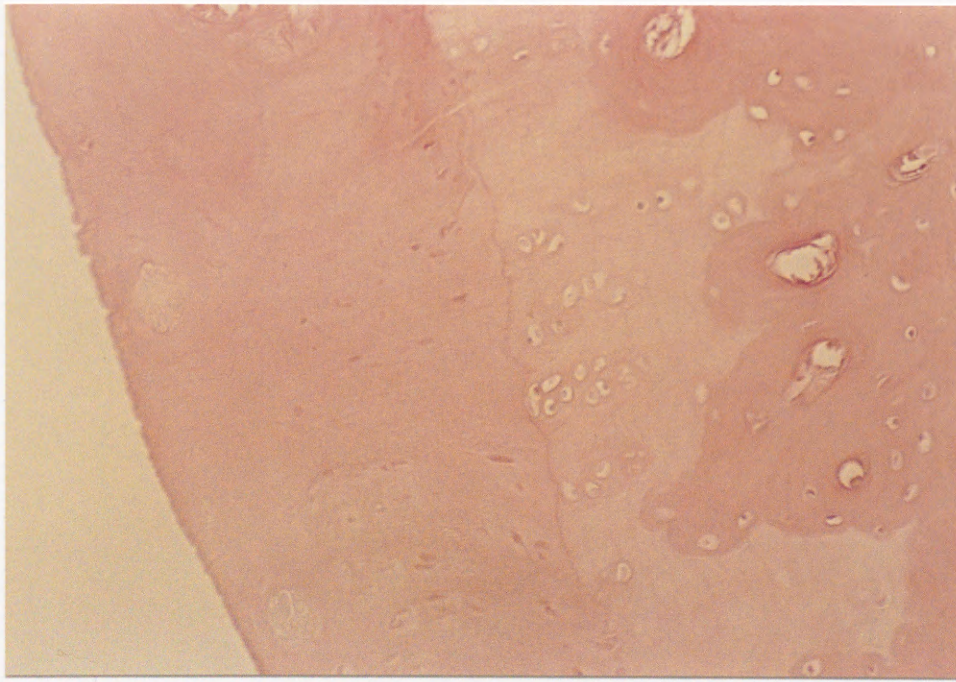


**c**

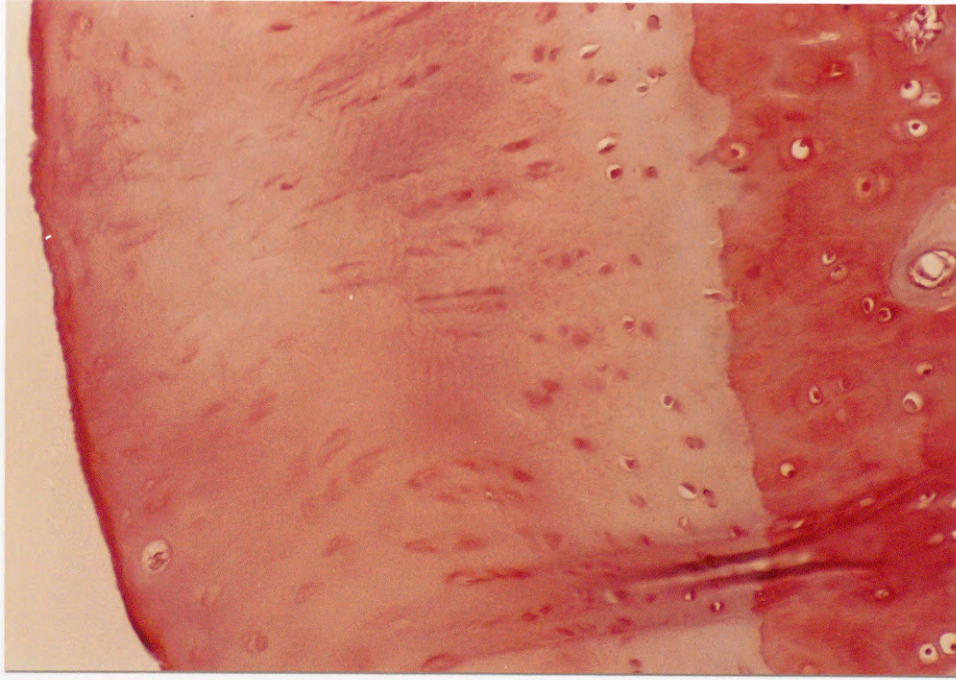
図10 A群の組織像 (評価スコア6点)

- a) 硝子軟骨細胞は保たれており，軟骨表面もスムーズである． (HE染色 x 200)
- b) 軽度の染色性の低下を認める． (Safranin O染色 x 200)
- c) 軽度の染色性の低下を認める． (Toluidine blue染色 x 200)

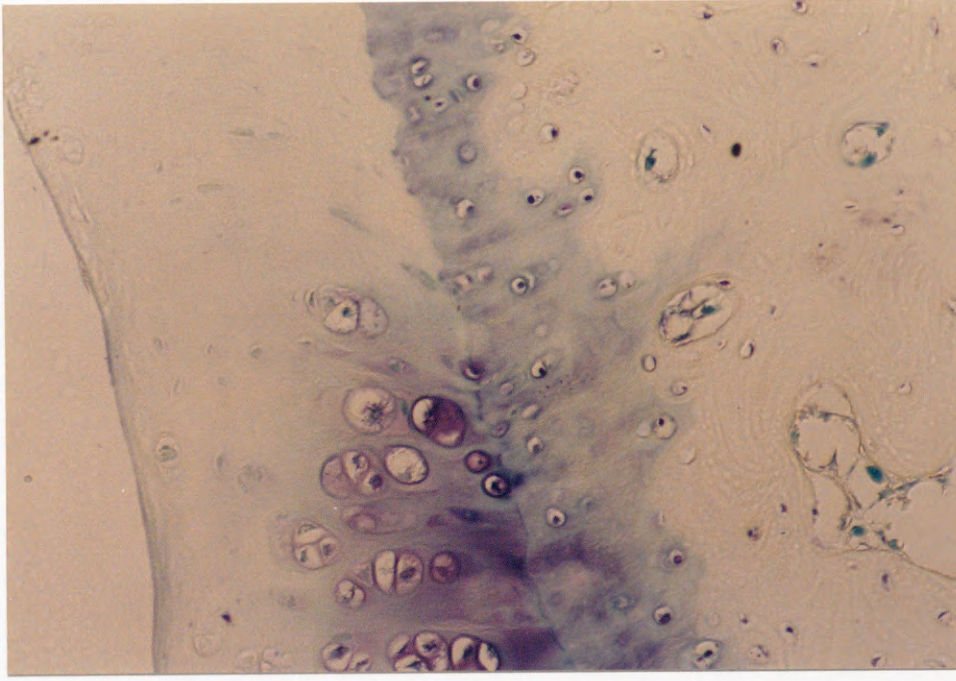




a



b

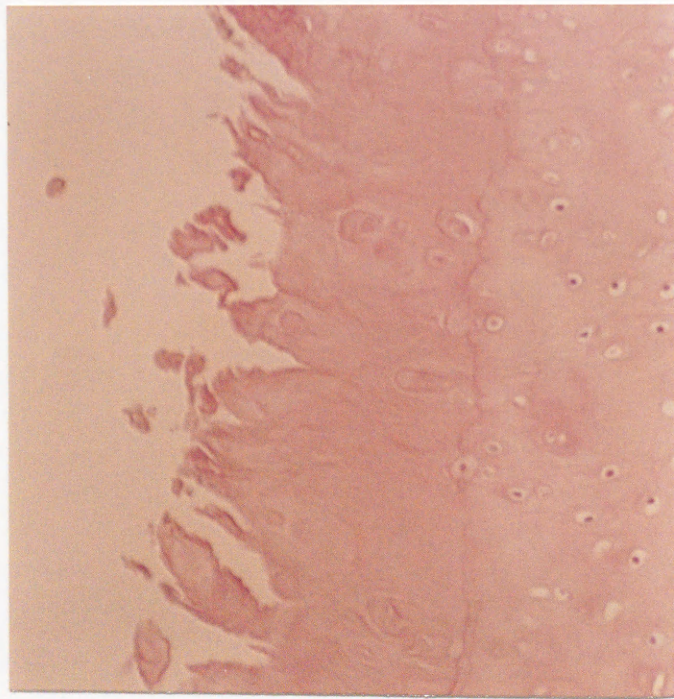


c

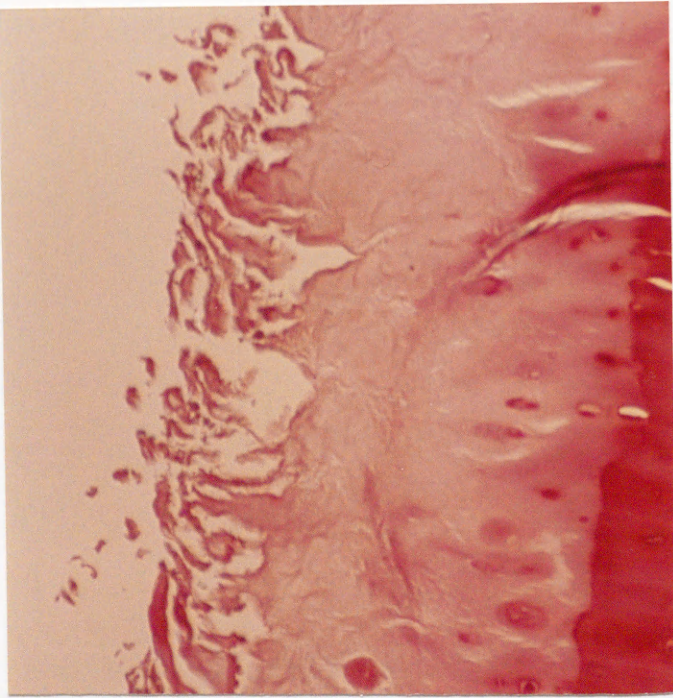
図11 B群の組織像 (評価スコア3点)

- a) 関節軟骨表面はスムーズであるが、線維軟骨様組織で置換されている。(HE染色 x 200)
- b) 明らかな染色性の低下を認める。(Safranin O染色 x 200)
- c) 明らかな染色性の低下を認める。(Toluidine blue染色 x 200)

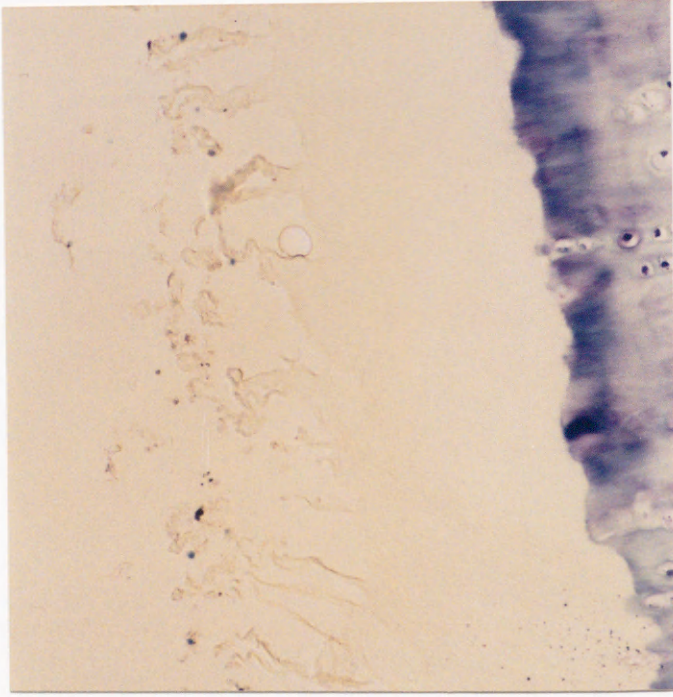




a



b



c

図12 C・D群の組織像 (評価スコア0点)

- a) 関節軟骨の欠損が著明で、軟骨表面もスムーズでない。(HE染色 x 200)
- b) 明らかな染色性の低下を認める。(Safranin O染色 x 200)
- c) ほとんど染色されない。(Toluidine blue染色 x 200)



表 1

# 組織学的評価スケール

I. Cell Morphology	2	mostly hyaline cartilage
	1	mostly fibrocartilage
	0	mostly non-cartilage
II. Surface Regularity	2	smooth
	1	moderate
	0	irregular
III. Matrix Staining (Safranin-O)	2	normal
	1	slightly reduced
IV. Matrix Staining (Toluidine Blue)	0	significantly reduced



表 2

組織所見評価スコア

	A群			B群			C群		D群	
No.	1	2	3	1	2	3	1	2	1	2
Cell Morphology	2	2	2	1	1	2	0	2	0	2
Surface Regularity	2	2	2	2	0	1	0	1	0	2
Matrix Staining (Safranin-O)	1	1	2	0	0	1	0	0	0	1
Matrix Staining (Toluidine Blue)	1	1	1	0	0	1	0	1	1	0
Total	6	6	7	3	1	5	0	4	0	5