

犬の膝関節における十字靭帯の機能解剖と関節運動の解析

日本大学大学院獣医学研究科獣医学専攻

博士課程

種子島 貢司

2019

本論文略語表

前十字靱帯 (cranial cruciate ligament) : CrCL

前内側帯 (craniomedial bundle) : CrMB

後外側帯 (caudolateral bundle) : CdLB

後十字靱帯 (caudal cruciate ligament) : CaCL

前外側帯 (craniolateral bundle) : CrLB

後内側帯 (caudomedial bundle) : CdMB

前十字靱帯 ; ヒト (anterior cruciate ligament) : ACL

前内側帯 ; ヒト (anteromedial bundle) : AMB

後外側帯 ; ヒト (posterolateral bundle) : PLB

後十字靱帯 ; ヒト (posterior cruciate ligament) : PCL

前外側帯 ; ヒト (anterolateral bundle) : ALB

後内側帯 ; ヒト (posteromedial bundle) : PMB

四次元コンピュータ断層撮影法 (four-dimensional computed tomography) : 4D-CT

目次

	頁
序	1
第一章 犬の前十字靭帯の前内側帯および後外側帯の機能解剖	6
1.1. 緒言	7
1.2. 材料および方法	9
1.2.1. 実験手順	
1.2.2. CrCL の大腿骨側および脛骨側の付着部領域の形態の観察	
1.2.3. CrMB と CdLB の付着部の面積および中心点の位置	
1.2.4. 膝関節可動時における各帯内の線維束の配列の変化	
1.2.5. 膝関節可動時における靭帯線維の張力の変化	
1.2.6. 統計学的分析	
1.3. 結果	20
1.3.1. CrCL の大腿骨側および脛骨側の付着部領域の形態の観察	
1.3.2. CrMB と CdLB の付着部の面積および中心点の位置	
1.3.3. 膝関節可動時における各帯内の線維束の配列の変化	
1.3.4. 膝関節可動時における靭帯線維の張力の変化	

1.4. 考察	30
第二章 犬の後十字靭帯の前外側帯および後内側帯の機能解剖	36
2.1. 緒言	37
2.2. 材料および方法	39
2.2.1. 実験手順	
2.2.2. CaCL の大腿骨側および脛骨側の付着部領域の形態の観察	
2.2.3. CrLB と CdMB の付着部の面積および中心点の位置	
2.2.4. 膝関節可動時における各帯内の線維束の配列の変化	
2.2.5. 膝関節可動時における靭帯線維の張力の変化	
2.2.6. 統計学的分析	
2.3. 結果	50
2.3.1. CaCL の大腿骨側および脛骨側の付着部領域の形態の観察	
2.3.2. CrLB および CdMB の付着部の面積および中心点の位置	
2.3.3. 膝関節可動時における各帯内の線維束の配列の変化	
2.3.4. 膝関節可動時における各帯と線維束の張力の変化	
2.4. 考察	60
第三章 4D-CT による犬の十字靭帯断裂モデルを用いた膝関節運動の解析 ...	65
3.1. 緒言	66

3.2. 材料および方法	67
3.2.1. 対象肢と群設定	
3.2.2. 4D-CT の撮影方法	
3.2.3. 撮影データの解析方法	
3.2.4. 膝関節可動時における脛骨の前後方向への変位の評価	
3.2.5. 膝関節可動時における脛骨の回旋の評価	
3.2.6. 膝関節可動時における脛骨の内反および外反の評価	
3.2.7. 統計学的分析	
3.3. 結果	78
3.3.1. 膝関節可動時における脛骨の前後方向への変位	
3.3.2. 膝関節可動時における脛骨の回旋	
3.3.3. 膝関節可動時における脛骨の内反および外反	
3.4. 考察	83
総括	87
謝辞	92

参考文献	93
------------	----

序

犬の十字靭帯は、膝関節内において前十字靭帯（cranial cruciate ligament ; CrCL）と後十字靭帯（caudal cruciate ligament ; CaCL）が交差する様にして存在し、膝関節安定機構の中心的役割を果たしている（Arnoczky and Marshall, 1977; Singleton, 1957）。CrCLは、大腿骨外側顆の内側面に起始し、脛骨顆間領域に終止する（Arnoczky and Marshall, 1977）。犬のCrCLは、脛骨の前方への変位の制御、膝関節の過度の伸展の防止、脛骨の過度な内旋の制御といった機能を有しており（Johnson and Hulse, 2002）、前内側帯（craniomedial bundle: CrMB）と後外側帯（caudolateral bundle: CdLB）の2つの帯から形成されている（Heffron and Campbell, 1978）。CrCLは、臨床的にも重要な靭帯であり、その断裂は犬の整形外科疾患の中で最も遭遇する機会の多い疾患とされている（Piermattei *et al.*, 2006）。跛行を呈して来院した症例の約20%において、CrCLの断裂が認められたという報告もある（Buote *et al.*, 2009; Piermattei *et al.*, 2006）。

CrCL断裂の好発犬種は、小型犬から大型犬まで様々だが、米国での疫学的調査によると、ニューファンドランド、ロット・ワイラー、ラブラドル・レトリバー、ゴールデン・レトリバー、ブルドック、ボクサーといった大型犬での発生が多い傾向がある（Hayashi *et al.*, 2010）。英国での大規模な疫学的調査（n=171,522）によると、犬におけるCrCL断裂の発生率は0.56%で、ロット・ワイラー、ウェスト・ハ

イランド・ホワイト・テリア、ヨークシャー・テリアで発生リスクが高いことが示されている (Talor-Brown *et al.*, 2015)。わが国においては、ウェルシュ・コーギー・ペンブローク、柴、トイ・プードルでの発症例にもしばしば遭遇する。

犬の CrCL 断裂は、ヒトと異なり単純な外傷による発生は少なく、靭帯線維の加齢性および変性性変化に外力が加わることで生じるとされている (Hayashi *et al.*, 2003)。CrCL は、加齢とともにコラーゲン線維が硝子化し脆弱化を来す。体重が 15kg 以上で、5 歳以上の犬では明らかに靭帯が変性し、強度が低下することが証明されている (Vasseur *et al.*, 1985)。

CrCL が断裂した犬では、膝関節に前方および内旋方向への不安定性を生じて、急性および慢性的な関節炎により跛行が継続する (Piermattei *et al.*, 2006)。犬の CrCL 断裂の治療は、保存療法と外科療法に大別される。保存療法が選択された場合、治療から 10 ヶ月経過しても 81%に跛行が残存したという報告もあり (Vasseur, 1984)、一般的に外科手術が選択されることが多い。

ヒトでは、1895 年に Mayo-Robson が初めて CrCL 断裂の整復術を行ったと報告されているが (Schindler, 2012)、犬では 1952 年に Paatsama が報告したのが最初である (Paatsama, 1952)。Paatsama は、脛骨と大腿骨にドリルで孔を空け、正常な CrCL の走行を模倣して大腿筋膜フ

ラップを設置し、膝関節の安定化を図った。しかし、この方法は、筋膜フラップを設置するための骨孔の位置が一定せず、必ずしも満足のいく成績を得ることができなかった (Vasseur, 2003)。1979 年に Arnoczky が、ヒトで Campbell らが報告した術式を参考に、大腿筋膜と膝蓋靭帯を用いて関節包内で固定する Over the Top 法を考案した (Arnoczky *et al.*, 1979)。それ以降、犬の CrCL 断裂の治療として、多くの外科的整復術が行われるようになった。

CrCL 断裂の整復術には、膝関節内で安定化を図る関節内再建術、膝関節の外で固定する関節包外制動術、脛骨骨切りによる膝関節の機能的安定化術に大別される。現在では、関節内再建術の術後の満足度が低いことから、関節包外制動術と脛骨骨切りによる機能的安定化術が中心に行われている (Johnson and Hulse, 2002)。しかし、いずれの手法においても、断裂した CrCL を再建するものでなく、犬においては CrCL の解剖学的再建術が確立していないのが現状である。

現在、ヒトでは、CrCL の機能解剖に関する詳細な情報が蓄積され、標準的な外科的治療法として膝関節内での解剖学的再建術が実施されている (Yasuda *et al.*, 2004)。近年、犬においても、ヒトと同様に、膝関節内での CrCL の解剖学的再建術の確立を目指し、研究が行われ始めている (Biskup *et al.*, 2017)。しかし、現在のところ、ヒトと比較して、その新規治療法の基礎となる犬の CrCL の機能解剖の研究がほと

んど行われておらず、解剖学的再建術を実施するための情報が明らかに不足している。また、犬で CrCL の解剖学的再建術を確立するためには、CrCL 断裂時に残存する CaCL の機能解剖や、各靭帯またはその一部が断裂した際の膝関節運動にも精通しておく必要がある。

そこで、本研究では、犬の CrCL 断裂の新規治療法の開発の基礎となる情報を集積する目的で、CrCL と CaCL の機能解剖を詳細に検討した。さらに、各種の十字靭帯断裂モデルを作製し、四次元コンピューター断層撮影法（four-dimensional computed tomography: 4D-CT）という従来にない手法を用いて、膝関節運動を客観的に検証した。

第一章

犬の前十字靭帯の前内側帯および後外側帯の機能解剖

1.1. 緒言

前十字靭帯 (cranial cruciate ligament: CrCL) 断裂は、犬において後肢の跛行の原因として最も一般的であり (Kowaleski and Boudrieau, 2017)、しばしば外科的介入を必要とする。近年、犬の CrCL 断裂に対する外科的治療法は、術後の機能回復が早いという理由から、脛骨高平部水平化骨切り術 (tibial plateau leveling osteotomy: TPLO) や脛骨粗面前進化術 (tibial tuberosity advancement: TTA) といった脛骨骨切りによる機能的安定化術が主流となっている (Krotscheck *et al.*, 2016)。最近になって、膝関節内で CrCL を再建する新たな術式がいくつか報告され、小動物臨床領域で注目を浴びている (Biskup *et al.*, 2017; Ho-Eckart *et al.*, 2017; Biskup *et al.*, 2015; Cook *et al.*, 2015)。しかし、これらの手法は、いずれも断裂した CrCL を完全に再建する術式ではなく、犬で CrCL を解剖学的により正確な位置で再建する術式は未だ確立していない。

一方で、現在、医学領域においては、前十字靭帯 (anterior cruciate ligament: ACL; ヒト) 断裂の外科的治療法として、膝関節内での解剖学的再建術が標準的な手法となっている (Yasuda *et al.*, 2004)。ヒトにおいては、ACL の解剖学的一重束再建術は、捻転負荷を十分に制御できないことが明らかになっている (Yagi *et al.*, 2002; Sakane *et al.*, 1997)。そのため、ACL の解剖学的再建術における現在の傾向は、ACL の前内

側帯 (anteromedial bundle: AMB; ヒト) と後外側帯 (posterolateral bundle: PLB; ヒト) の両帯をともに再建する解剖学的二重束再建術に移行しており、実際の臨床においても解剖学的一重束再建術よりも良好な結果が得られている (El-Sherief *et al.*, 2018; Järvelä *et al.*, 2017)。解剖学的二重束再建術における長期成績の優位性に関しては議論があるものの、その有効性は様々な機能解剖学および生体力学的研究によって強く支持されている (Suruga *et al.*, 2017; Hara *et al.*, 2009; Edwards *et al.*, 2008; Tsukada *et al.*, 2008)。

犬の CrCL も、ヒトと同様に頭側と尾側の 2 つの帯で構成されているが、各々の帯の形態と機能に関する研究はヒトと比較してきわめて少ないのが現状である。犬の CrCL の大腿骨側および脛骨側の付着部を主観的に観察した報告はあるが (Heffron and Campbell, 1978)、前内側帯 (craniomedial bundle: CrMB) と後外側帯 (caudolateral bundle: CdLB) の 2 つの帯に分けた検討は未だ行われていない。その他に、CrCL は後十字靭帯と交差するように走行し、CrCL 自体も捻転しているという報告はあるが (Stouffer *et al.*, 1983; Heffron and Campbell, 1978; Arnoczky and Marshall, 1977; Singleton, 1957)、膝関節可動時における CrMB と CdLB および各帯内の線維束の配列の変化に関して詳細に観察した研究は見当たらない。また、犬の CrCL の強度の測定には、多くの場合、引張試験が行われているが、膝関節可動時における CrCL の張力を直

接的に評価した報告は存在しない。

そこで、本章では、犬の CrCL 断裂に対する外科的治療法として膝関節内における解剖学的二重束再建術を開発するための基礎的データを取得するために、(1) 犬の CrCL における CrMB と CdLB の付着部領域の形態の観察、(2) 各帯の付着部の面積と位置の客観的な測定、(3) 各帯内の線維束の走行と膝関節可動時における配列の変化に関する主観的な評価、(4) 膝関節可動時における靭帯線維の張力の客観的な測定を行った。

1.2. 材料および方法

1.2.1. 実験手順

本検討は、他の目的のために安楽死された健常ビーグル犬（北山ラベス、伊那市、長野県）の左後肢、12 肢を使用して行った（日本大学動物実験委員会:承認番号 AP11B079、2011 年）。本検討で使用したビーグル犬は、全て成犬であり（平均：3.8±1.7 歳）、体重は 8.0～13.9 kg（平均：11.0±2.0 kg）で、雄と雌が各々 6 頭であった。

過去のヒトでの報告にしたがって（Mochizuki *et al.*, 2014）、軟部組織を除去した後に大腿骨内側顆を切除し CrCL を露出させた。最初に、CrCL の大腿骨付着部領域の解剖学的特徴を詳細に観察した（n=12）。観察は 2 人の研究者によって行われ、それぞれが解剖学的特徴を確認

して記録した。本検討では、性別、年齢、体重に関係なく、取得順に最初の 6 肢で CrMB を評価し、残りの 6 肢で CdLB を評価した。

まず、最初の 6 肢においては、CdLB のみを付着部で切除し、大腿骨側と脛骨側における CdLB の付着部の面積および位置を客観的に測定した。次いで、各々の膝関節の角度において、CrMB の形態学的特徴を記録した (n=6)。その後、CrMB を 4 本の線維束に等分割し、膝関節可動時における各線維束の配列の変化を記録した。さらに、CrMB 全体および各線維束の張力を客観的に計測した (n=6)。

同様に、残りの 6 肢においては CrMB を除去し、CrMB の大腿骨側と脛骨側の付着部の面積と位置を客観的に測定した。次いで、CdLB を 4 本の線維束に等分割し、膝関節可動時の各線維束の配列の変化を記録した。さらに、CdLB 全体および各線維束の張力を客観的に測定した (n=6)。

最後に、残存した CrMB または CdLB を切除し、各々の付着部の面積と位置を測定した (各 n=6、合計 n=12)。なお、CrCL 全体の張力は、CrMB と CdLB を切除する前に測定した。

1.2.2. CrCL の大腿骨側および脛骨側の付着部領域の形態の観察

過去にヒトで報告された方法にしたがって (Hara *et al.*, 2009; Mochizuki *et al.*, 2006)、CrCL の大腿骨付着部領域の形態を観察した。

次いで、ヒトで膝関節を屈曲した時に出現する大腿骨付着部近傍の靭帯線維の折り返しの有無を記録した。さらに、ヒトにおいて大腿骨付着部領域の前方に認められ、関節鏡視下で ACL の解剖学的再建術を行う際の目印として重要な resident's ridge と呼ばれる骨隆起の存在も観察した (n=12) (Shino *et al.*, 2010)。

脛骨付着部領域の形態も、過去のヒトでの研究を参考にして (Hara *et al.*, 2009)、観察および記録した (n=12)。

1.2.3. CrMB と CdLB の付着部の面積および中心点の位置

本検討では、過去の犬での報告にしたがって (Heffron and Campbell, 1978)、CrCLを2つの帯に分割し、脛骨側において頭側に付着している帯をCrMB、尾側に付着している帯をCdLBと定義した (図1-1)。CrMBおよびCdLB以外の帯があれば、その帯の形態および走行も記録した。

大腿骨側におけるCrMBまたはCdLBの付着部の面積と中心点の位置を決定するために、CrMBまたはCdLBの靭帯線維を骨付着部から0.5mm残した位置でNo.11のメスを用いて切除した。次いで、骨表面に残存した靭帯線維をカラーインクで染色し、大腿骨外側顆の内側面に垂直な位置で写真を撮影し、イメージングソフトウェア (Image J; 米国国立衛生研究所 (NIH)、Bethesda、メリーランド州、米国) を用いて各帯の付着部の面積を客観的に計測した。大腿骨側では、各帯の付着部の面積

を、関節軟骨の領域を除いた大腿骨外側顆内側面の面積で除することによって面積比を算出し、各帯の面積を比較した（図1-2A）。

脛骨側においても、No.11のメスを用いてCrMBまたは、CdLBの靭帯線維を骨付着部から0.5mm残した位置で切除し、残存した靭帯線維をカラーインクで染色した。次いで、脛骨の近位関節面に垂直な位置で写真を撮影し、Image Jを用いて各帯の付着部の面積を客観的に計測した。脛骨側では、各帯の付着部の面積を、脛骨の内側顆、脛骨粗面、外側顆で取り囲む近位関節面の面積で除することによって面積比を算出し、各帯の面積を比較した（図1-2B）。

さらに、ヒトの研究で用いられているQuadrant法を用いて（Kawaguchi *et al.*, 2013; Bernard *et al.*, 1997）、大腿骨側の各帯の付着部の中心点の位置を客観的に測定した。最初に、前述のImage Jを用い、各帯の付着部の面積を基に中心点を求めた。次いで、大腿骨外側顆の内側面に、測定用の格子状グリッドを以下の要領で重ね合わせた。まずは、グリッドの近位側を顆間切痕の近位端（Blumensaat's line）に重ね、次いで、グリッドの頭側、尾側、遠位側を大腿骨顆の関節軟骨縁に接するように配置した（Reichert *et al.*, 2013）。さらに、グリッドにX-Y座標軸を設置し、各帯の中心点の位置を客観的に計測した（Kawaguchi *et al.*, 2013; Bernard *et al.*, 1997）（図1-3A）。

脛骨側の各帯の中心点の位置も、Quadrant法の変法に基づいて客観的

に測定した (Kawaguchi *et al.*, 2013; Tsukada *et al.*, 2008)。まずは、大腿骨側と同様に、脛骨側における各帯の中心点を求め、測定用の格子状グリッドを重ね合わせた。その際には、脛骨の近位表面の頭側、尾側、内側、外側の骨端に接するようにグリッドを配置した。さらに、グリッドにX-Y座標軸を設置し、各帯の中心点の位置を客観的に計測した (Kawaguchi *et al.*, 2013) (図1-3B)。

1.2.4. 膝関節可動時における各帯内の線維束の配列の変化

最初に、過去のヒトでの報告にしたがって (Hara *et al.*, 2009)、CrMB および CdLB の靭帯線維を、頭側、中央内側、中央外側、尾側の 4 つ部分に等分割した (図 1-4)。各帯の分割は、大腿骨と脛骨を捻転させて各帯を直線状にしてから、キャリパーを用いて行った。次いで、膝関節の角度が 180°、135°、90°、40°の時の各線維束の走行および配列の変化を写真で記録した。本検討では、大腿骨の近位 3 分の 1 と遠位 3 分の 1 の位置における骨幅の中心点を結んだ線と、脛骨の近位 3 分の 1 と遠位 3 分の 1 の位置における骨幅の中心点を結んだ線が交わって形成された角度を、膝関節の角度と規定して評価を行った。

1.2.5. 膝関節可動時における靭帯線維の張力の変化

本検討では、ヒトにおける過去の報告と類似した手法を用い (Fujii *et*

al., 2017; 久保ら, 2017)、荷重測定器 (ZTS-20N; 株式会社イマダ、豊橋市、愛知県、日本) を使用して、靭帯線維の張力を客観的に測定した (図 1-5)。測定プロトコールは、他のビーグル犬の膝関節を用いた予備的検討を基に決定した。最初に、大腿骨と脛骨の角度が 180°となるように固定した (図 1-5)。まずは、CrCL の靭帯線維にフックをかけて、垂直方向に 0.1N で牽引した後に 0 補正を行った。次いで、垂直方向に 1 mm 牽引し、CrCL 全体、CrMB 全体、CdLB 全体、それぞれの帯の各線維束の張力を測定した (図 1-5)。さらに、大腿骨と脛骨の角度が、135°、90°、40°となる位置においても、同様に測定を行った。全ての測定値は、大腿骨と脛骨の角度が 180°における CrCL の張力を 100%として、その比率を算出することで評価した。

1.2.6. 統計学的分析

本検討で得られたデータは、平均値±標準偏差として示した。結果の解析には、統計分析ソフトウェア (GraphPad Prism6; GraphPad Software Inc., La Jolla, カリフォルニア州、米国) を使用した。得られたデータは、二元配置分散分析 (two-way ANOVA) を用いて比較し、事後検定として Tukey の多重比較を行った。CrMB および CdLB の附着部の面積比の平均値は、対応のない *t* 検定を行って比較した。本検討では、 $p < 0.05$ をもって有意差ありと判定した。

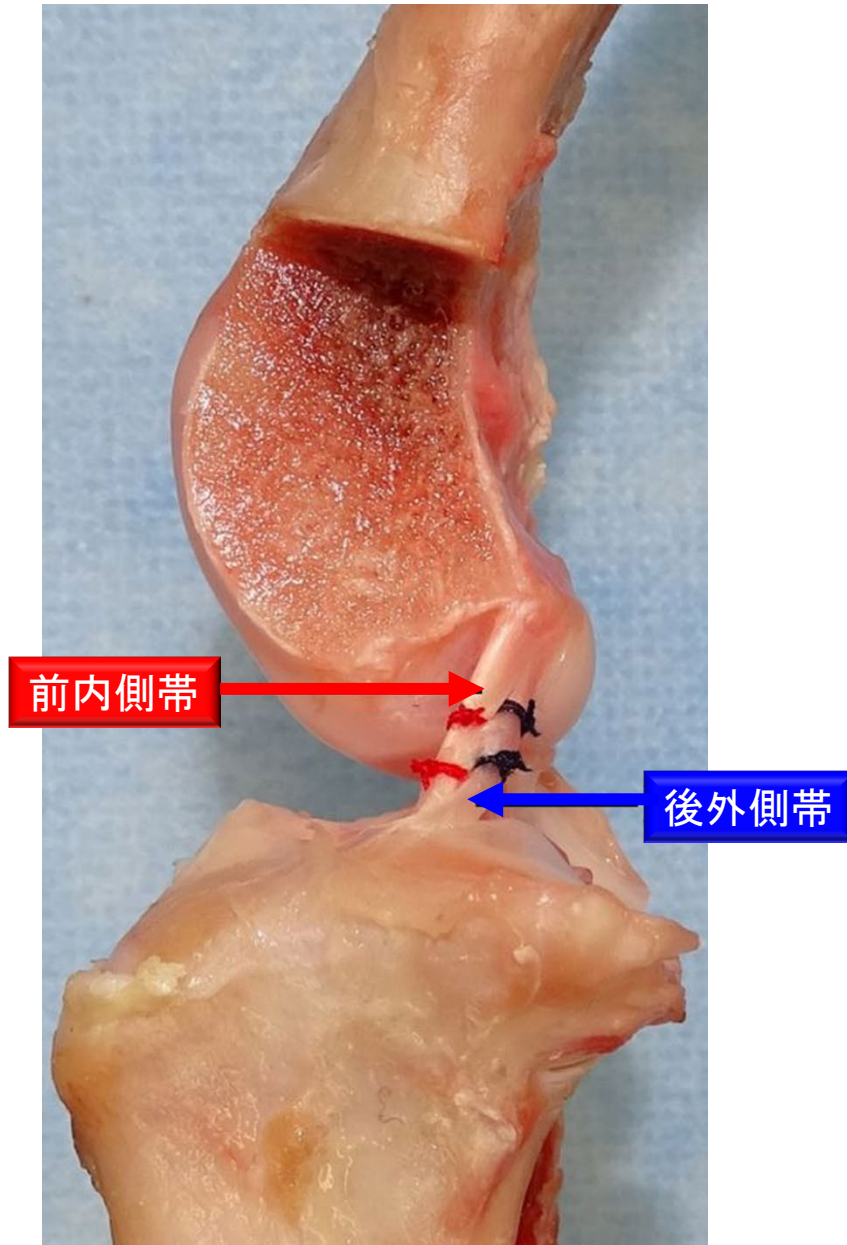
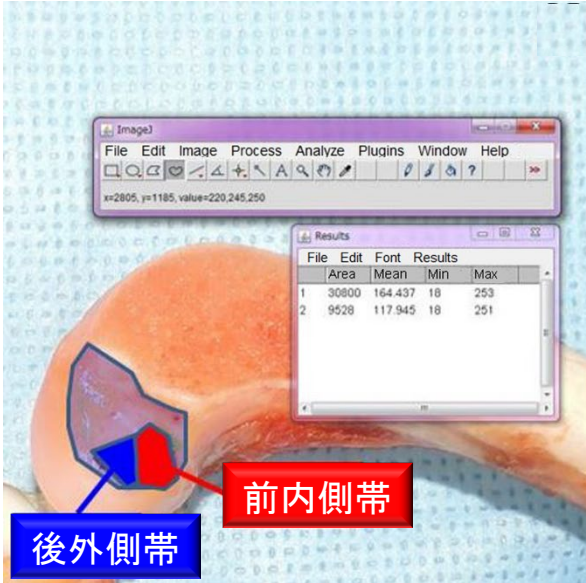


図 1-1 犬の前十字靭帯 (CrCL) の前内側帯 (CrMB) と後外側帯 (CdLB)
本検討では、脛骨側において頭側に付着している帯を前内側帯 (CrMB: 赤色)、尾側に付着している帯を後外側帯 (CdLB: 青色) と定義した。

A



B

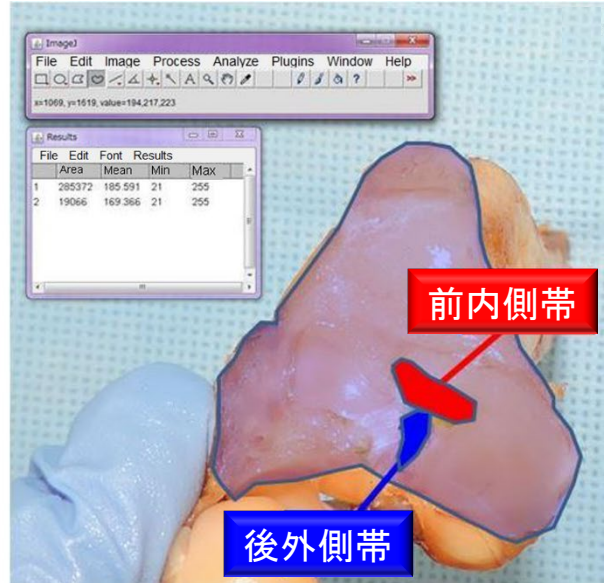
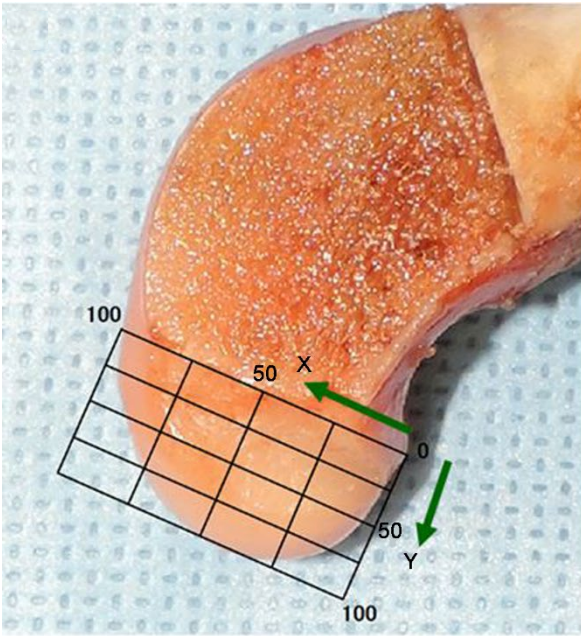


図 1-2 各帯の付着部の面積比の算出方法

各帯の付着部の面積比は、大腿骨外側顆の内側面および脛骨の近位関節面に垂直な位置で写真を撮影し、イメージングソフトウェア（Image J）を用いて客観的に計測した。

(A) 大腿骨側では、前内側帯（CrMB: 赤色）と後外側帯（CdLB: 青色）の付着部の面積を、関節軟骨の領域を除いた大腿骨外側顆内側面の面積（青色の透明領域）で除することによって面積比を算出した。(B) 脛骨側では、前内側帯（CrMB: 赤色）と後外側帯（CdLB: 青色）の付着部の面積を、脛骨の内側顆、脛骨粗面、外側顆で取り囲む近位関節面の面積（青色の透明領域）で除することによって面積比を算出した。

A



B

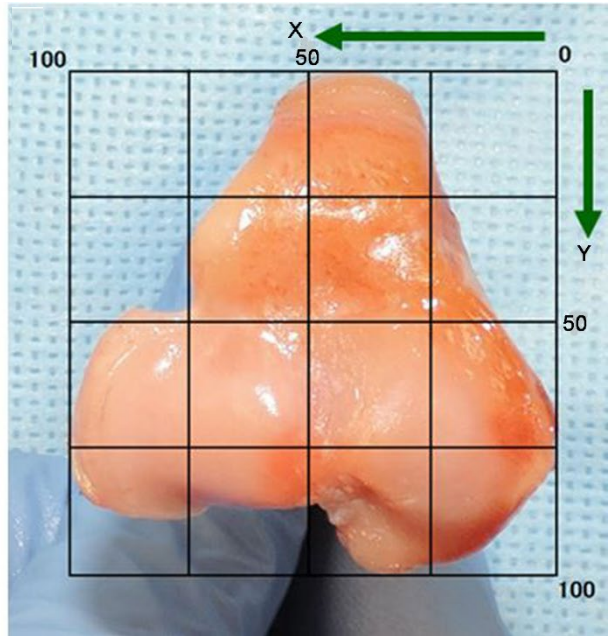


図 1-3 各帯の付着部における中心点の位置の測定方法

前内側帯 (CrMB) と後外側帯 (CdLB) の付着部における中心点の位置を **Quadrant**法またはその変法を用いて測定した。

(A) 大腿骨側の測定方法：測定用の格子状グリッドを顆間切痕の近位端 (Blumensaat's line)、大腿骨顆の頭側、尾側、遠位側の関節軟骨縁に接するように配置し、上図の座標軸を用いて測定を行った。(B) 脛骨側の測定方法：脛骨の近位表面の頭側、尾側、内側、外側の骨端に接するようにグリッドを配置し、上図の座標軸を用いて測定を行った。

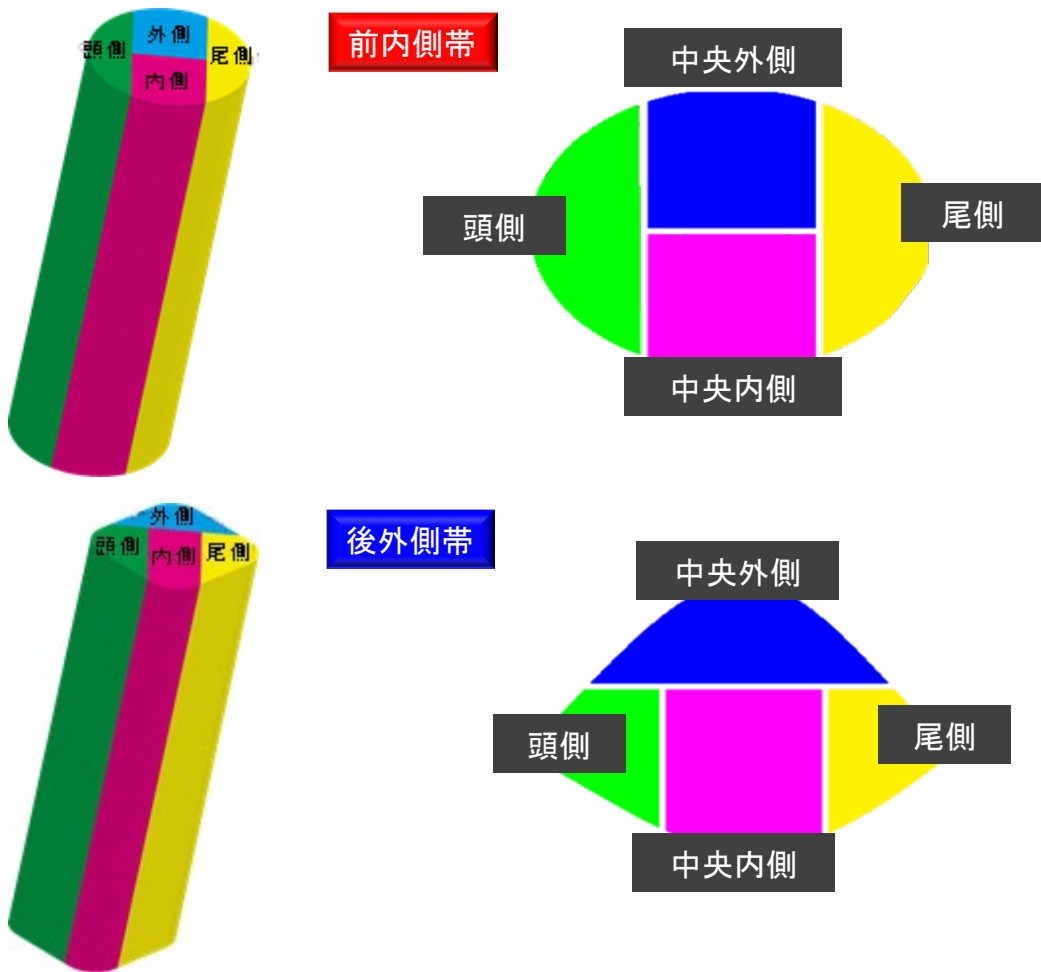
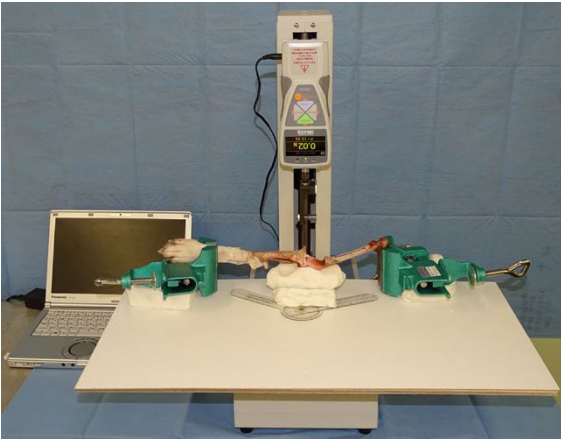


図 1-4 各帯内の線維束の分割方法
 前内側帯 (CrMB) と後外側帯 (CdLB) を4つの線維束に等分割し、関節可動時の配列の変化を観察した。

A



B

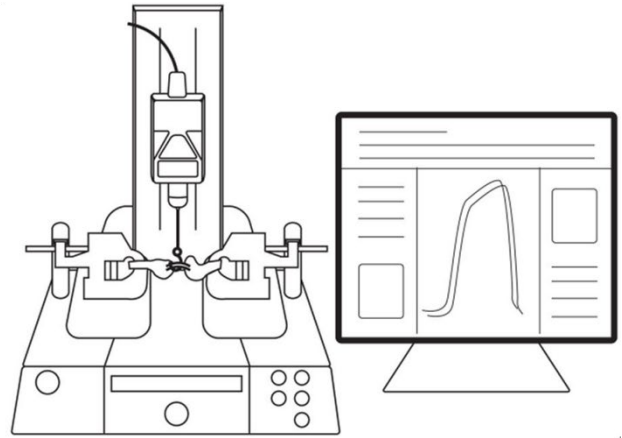


図 1-5 靭帯線維の張力の測定方法

本検討では、荷重測定器（ZTS-20N; 株式会社イマダ）を使用して、前十字靭帯（CrCL）全体、前内側帯（CrMB）全体、後外側帯（CdLB）全体、両帯の各線維束の張力を客観的に測定した。

（A）実際に測定を行っているところ、（B）模式図。

1.3. 結果

1.3.1. CrCL の大腿骨側および脛骨側の付着部領域の形態の観察

ヒトで ACL の大腿骨側の付着部で認められ、扇状に線維が広がる fan-like extension fiber は (Mochizuki *et al.*, 2014)、犬では確認することができず、全頭で付着部が特徴的な二辺からなる矢尻状の形態を呈していた (図 1-6)。また、ヒトでは膝関節を屈曲させていくと、ACL の付着部の近傍に折り返しが認められるが (Mochizuki *et al.*, 2014; Mochizuki *et al.*, 2006)、本検討では全てで明確な折り返しは観察できなかった。さらに、ヒトで大腿骨側の付着部前方に認められ、関節鏡視下で ACL の解剖学的再建術を行う際の目印となる resident's ridge と称される骨隆起は (Shino *et al.*, 2010)、全ての犬において存在せず、大腿骨外側顆の内側面は平坦であった。

脛骨側においては、CrMB が顆間領域の頭側に広く付着しており、CdLB は CrMB のすぐ尾側に付着していた。膝関節を可動させても、脛骨側の付着部に顕著な形態学的な変化は認められなかった。

1.3.2. CrMB と CdLB の付着部の面積および中心点の位置

大腿骨側における、CrMB または CdLB の付着部の面積を、関節軟骨領域を除いた大腿骨外側顆内側面の面積で除した値は、各々 $18.5 \pm 2.0\%$ 、 $16.9 \pm 2.7\%$ であった (図 1-7A)。脛骨側では、CrMB または CdLB の付着

部の面積を、脛骨の内側顆、脛骨粗面、外側顆で取り囲む近位関節面の面積で除した値は、各々 $8.5 \pm 1.3\%$ および $7.5 \pm 2.0\%$ であった（図 1-7B）。

大腿骨側における CrMB 付着部の中心点は、大腿骨顆尾側縁から頭側に向かって $25.7 \pm 2.1\%$ 、顆間切痕の近位端 (Blumensaat's line) から遠位側に向かって $35.8 \pm 2.3\%$ の位置に存在していた(図 1-8A)。一方で、CdLB 付着部の中心点は、大腿骨顆尾側縁から頭側に向かって $32.3 \pm 2.8\%$ 、顆間切痕の近位端 (Blumensaat's line) から遠位側に向かって $52.5 \pm 4.2\%$ の位置にあり、CrMB 付着部の中心点の位置よりもやや頭遠位側に存在していた(図 1-8A)。

脛骨側における CrMB 付着部の中心点の位置は、脛骨の内側縁から外側に向かって $42.6 \pm 1.6\%$ 、頭側縁から尾側に向かって $53.4 \pm 2.8\%$ の位置に存在していた。一方で、CdLB 付着部の中心点は、脛骨の内側縁から外側に向かって $42.0 \pm 1.5\%$ 、頭側縁から尾側に向かって $64.3 \pm 2.3\%$ の位置にあり、CrMB の付着部の中心点の位置よりもやや尾側に存在していた(図 1-8B)。

本検討では、12 肢中 8 肢で CrMB および CdLB 以外の第三の帯ともいえる線維束が認められた。それらの帯は、大腿骨側の CdLB の付着部の尾側から、脛骨側の CdLB の付着部の尾側に向かって走行していた。その形態は、6 例が膜状であり、2 例が線維状であった(図 1-9)。

1.3.3. 膝関節可動時における各帯内の線維束の配列の変化

膝関節を伸展位から屈曲させていくにしたがって、全ての CrCL の線維束は外旋していった。膝関節の角度が 180°の時には、CrMB および CdLB 内の各線維束は平行に走行していたが、膝関節を屈曲させていくにつれて、CrMB および CdLB 内の各線維束の配列は互いに交差するように捻転していく様子が観察された（図 1-10A, B）。膝関節を完全に伸展させた時には、CrMB の全ての線維束が CdLB の線維束よりも頭側に位置していた。しかし、膝関節を屈曲させるにしたがって、大腿骨側の CrMB と CdLB の各線維束の付着部の位置関係は逆転し、膝関節を完全に屈曲させた時には、CdLB の方が CrMB よりも頭側に位置していた（図 1-10C）。

1.3.4. 膝関節可動時における靭帯線維の張力の変化

CrCL 全体と CrMB 全体の張力は、いずれの膝関節の角度においても明らかな変化は認められなかった。一方で、CdLB 全体の張力は、膝関節が屈曲するにつれて有意に低下していった ($p < 0.05$)（図 1-11A）。

CrMB 内の各線維束の張力を比較したところ、いずれの膝関節の角度においても、中央部の 2 つの線維束が、その他の線維束よりも一貫して高い数値を示した。一方で、頭側と尾側の線維束の張力は、伸展位では有意に低かったものの ($p < 0.05$)、屈曲するにつれて上昇し、次第に中央部の 2 つの線維束の張力に近づいていった（図 1-11B）。

CdLB の各線維束の張力は、膝関節を屈曲するにしたがって減少していった。中央外側と尾側の線維束は、いずれの角度でも中央内側と頭側の線維束に比べ有意に高い張力を示した ($p < 0.05$) (図 1-11C)。

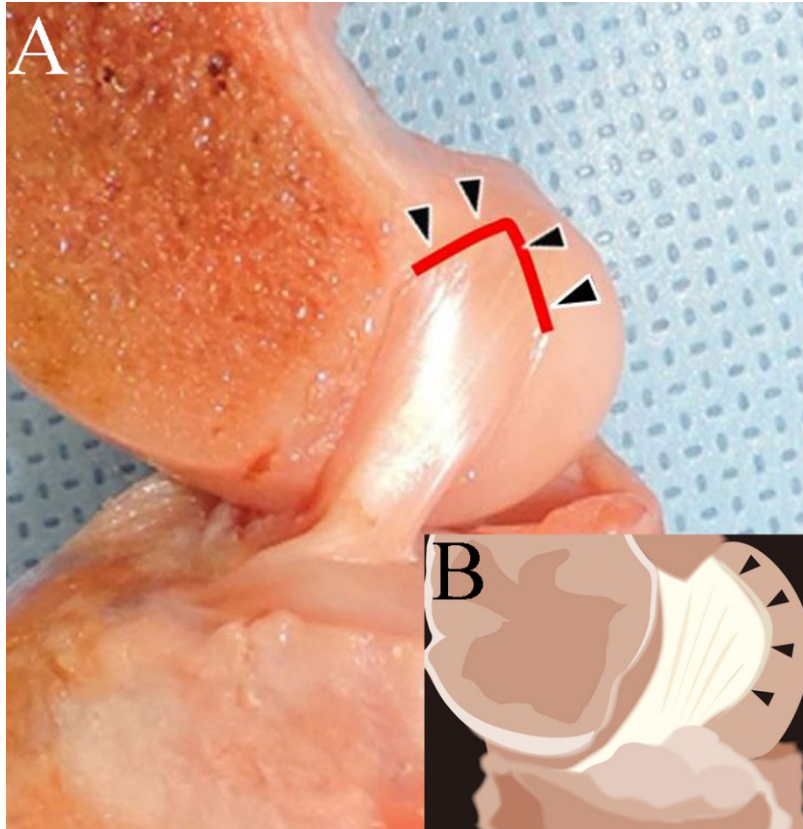
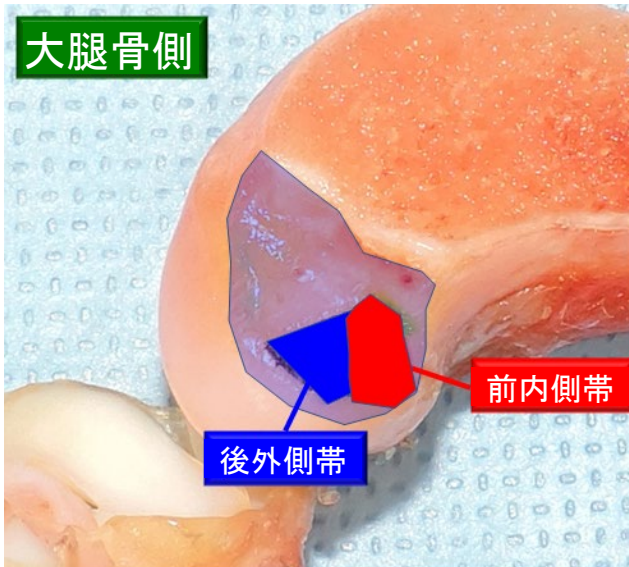


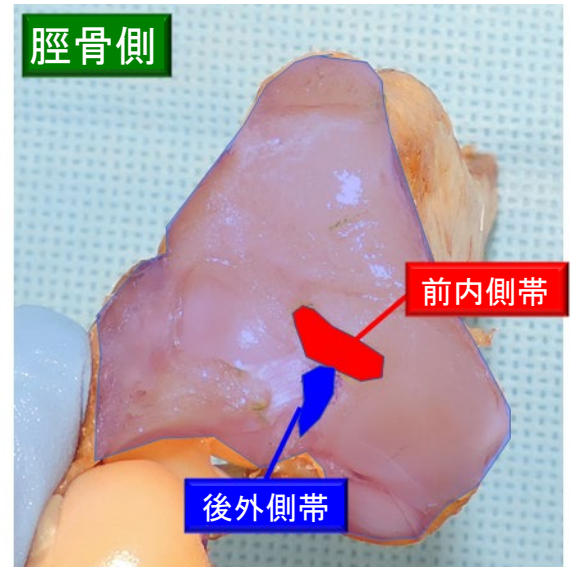
図 1-6 大腿骨側の付着部領域の形態

(A) 犬では、ヒトで認められるfan-like extension fiberは認められず、二辺からなる矢尻状の特徴的な形態を呈していた(矢頭)。(B) ヒトで観察されるfan-like extension fiber(矢頭)の模式図。

A



B



面積比	
前内側帯	18.5±2.0%
後外側帯	16.9±2.7%

面積比	
前内側帯	8.5±1.3%
後外側帯	7.5±2.0%

図 1-7 各帯の付着部の面積

(A) 大腿骨側における前内側帯 (CrMB: 赤色) と後外側帯 (CdLB: 青色) の付着部の面積比。(B) 脛骨側における前内側帯 (CrMB: 赤色) と後外側帯 (CdLB: 青色) の付着部の面積比。前内側帯 (CrMB) の付着部の面積は、大腿骨側および脛骨側のいずれにおいても、後外側帯 (CdLB) の付着部の面積より大きい傾向が認められた。

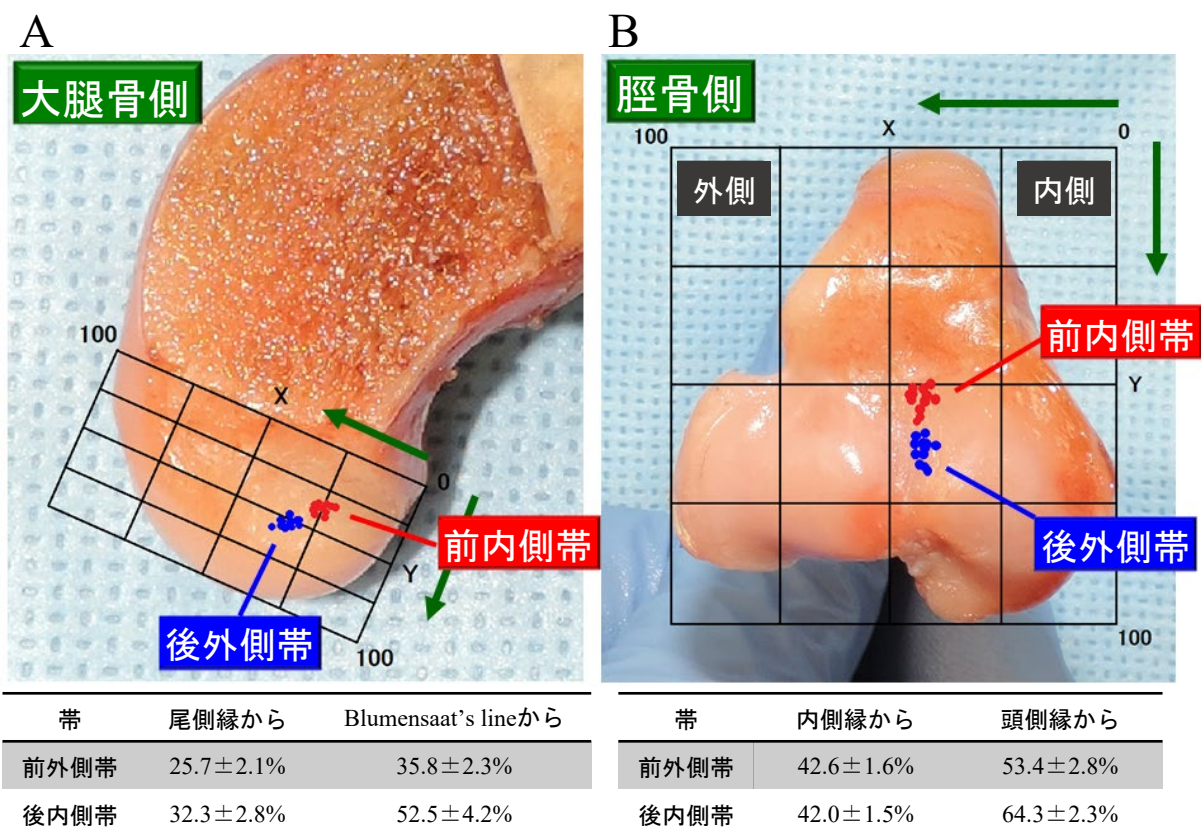


図 1-8 大腿骨側および脛骨側における各帯の中心点の位置

(A) 大腿骨側：前内側帯（CrMB: 赤色）付着部の中心点の位置は、後外側帯（CdLB: 青色）よりやや尾近位側に存在していた。(B) 脛骨側：前内側帯（赤色）付着部の中心点の位置は、後外側帯（青色）よりも頭側に存在していた。

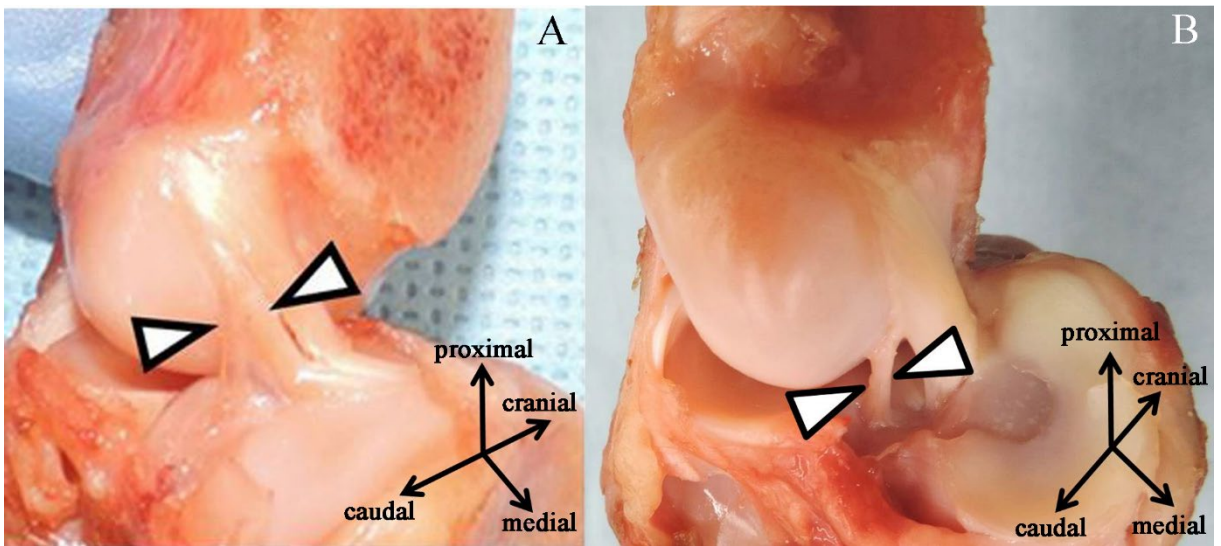


図 1-9 前十字靭帯 (CrCL) の前内側帯 (CrMB) と後外側帯 (CdLB) 以外に認められた帯 (矢頭)
 (A) 膜状、(B) 線維状

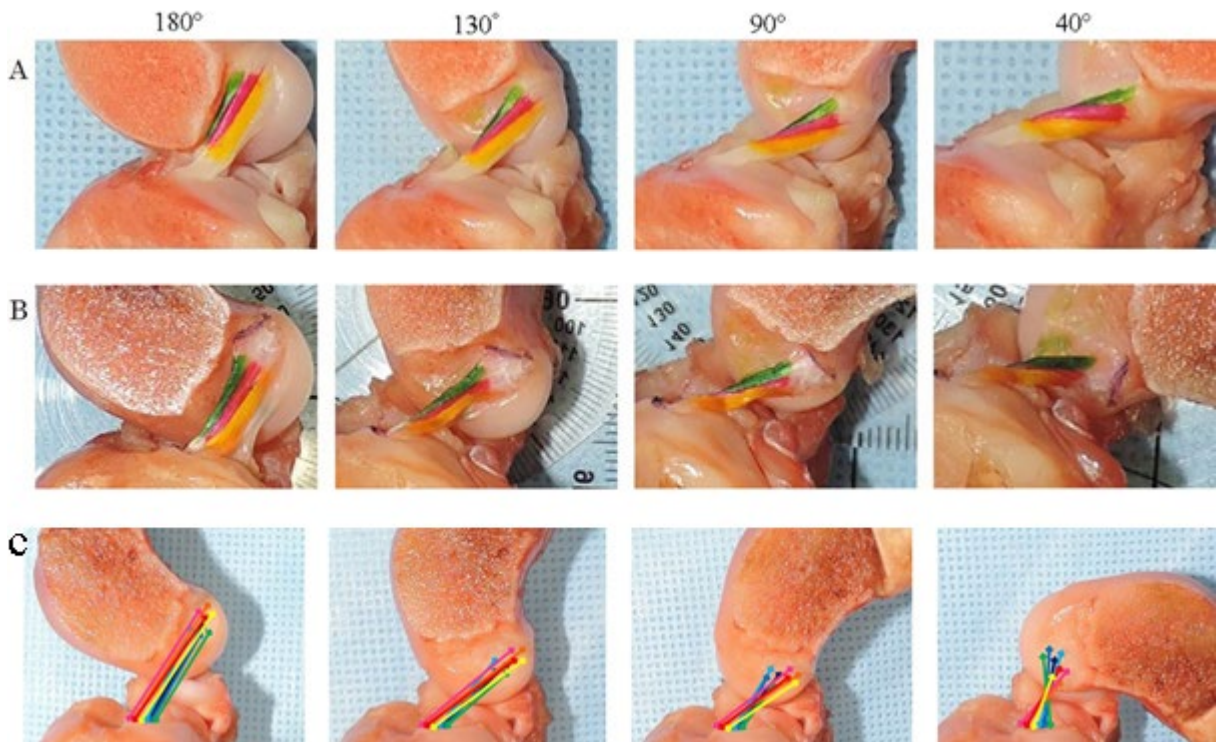


図 1-10 膝関節可動時における各帯内の線維束の配列の変化

(A) 前内側帯 (CrMB)、(B) 後外側帯 (CdLB)、(C) 各帯内の線維束の配列の変化を示した模式図。Cでは黄色から赤色の暖色系がCrMBの線維束、紺色から緑色の寒色系がCdLBの線維束。

膝関節を屈曲させていくにつれて、各帯内の線維束の配列は互いに交差するように捻転していく様子が観察された。また、膝関節を屈曲させるにしたがって、大腿骨側のCrMBとCdLB内の各線維束の付着部の位置関係は逆転し、膝関節を完全に屈曲させた時には、CdLBの方がCrMBよりも頭側に位置している様子が確認できた。

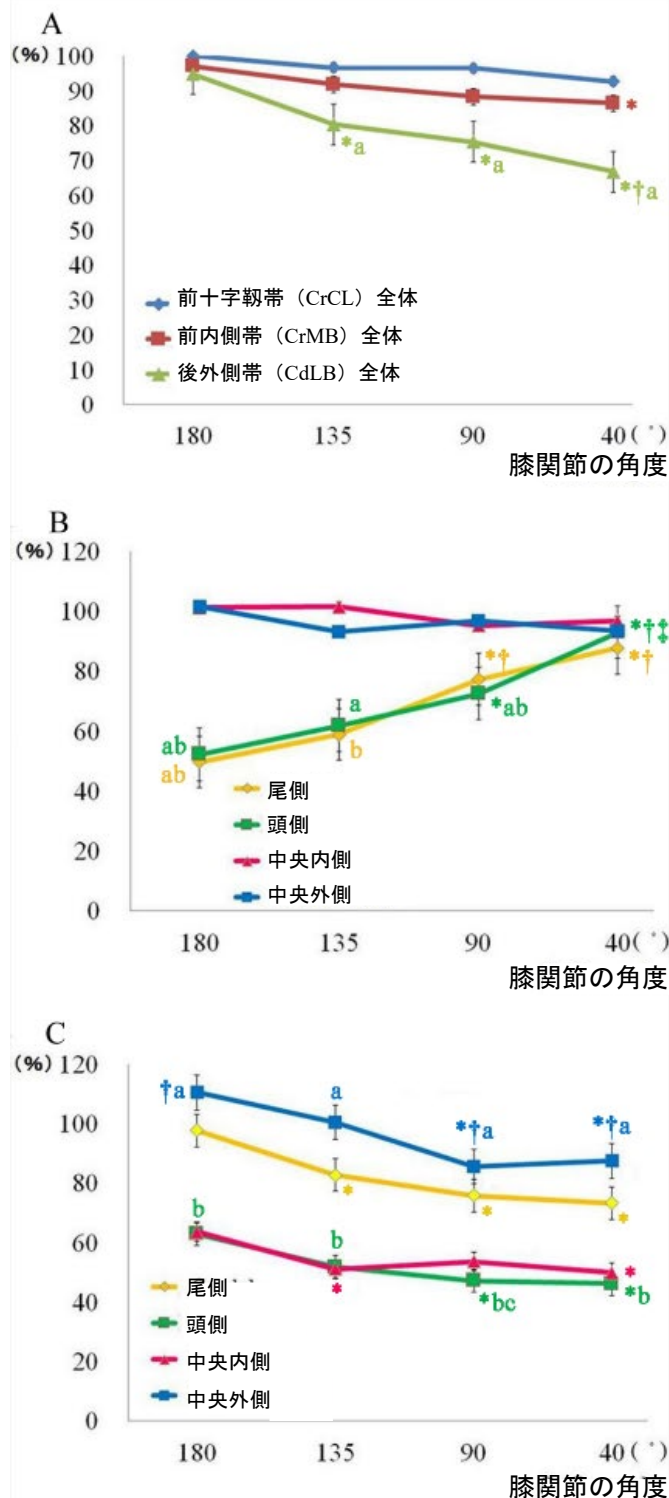


図 1-11 膝関節可動時における靭帯線維の張力の変化

(A) 前十字靭帯 (CrCL) 全体、前内側帯 (CrMB) および後外側帯 (CdLB) 全体の張力 ($p < 0.05$, *は180° の値と比較した場合に有意差あり、†は135° の値と比較した場合に有意差あり、aは同一角度においてCrCL全体を比較した場合に有意差あり)。(B) CrMBの各線維束の張力 ($p < 0.05$, *は180° の値と比較した場合に有意差あり、†は135° の値と比較した場合に有意差あり、‡は90° の値と比較した場合に有意差あり、aは同一角度において中央内側部を比較した場合に有意差あり、bは同一角度において中央外側部と比較した場合に有意差あり)。(C) CdLBの各線維束の張力 ($p < 0.05$, *は180° の値と比較した場合に有意差あり、†は135° の値と比較した場合に有意差あり、aは同一角度において中央内側部と比較した場合に有意差あり、bは同一角度において中央外側部と比較した場合に有意差あり、cは同一角度において尾側部と比較した場合に有意差あり)。縦軸は、全ての測定値を膝関節の角度が180° 時のCrCL全体の張力を100%としての比率として示した。横軸は、各々の膝関節の角度を示した。

1.4. 考察

本章では、以下の項目を明らかにすることができた：(1) 犬の CrCL の付着部領域の解剖は、fan-like extension fiber や resident's ridge が認められないなど、ヒトの付着部領域の形態とは明らかに異なっていた。

(2) CrMB の付着部は、大腿骨側においては CdLB の付着部の尾近位側に位置し、脛骨側においては CdLB の付着部の頭側に位置していた。

(3) 膝関節可動時に、CrMB と CdLB の各線維束は複雑に捻転していた。(4) CrMB と CdLB の各線維束の張力は、膝関節の角度によって有意に変化していた ($p < 0.05$)。

犬において、CrCL の付着部領域の形態を詳細に検討した報告は数える程しかない (Reichert *et al.*, 2013; Proffen *et al.*, 2012; Heffron and Campbell, 1978; Arnoczky and Marshall, 1977)。本検討では、全ての犬において、大腿骨側の CrCL の付着部が、限局された二辺からなる矢尻状の形態を呈していた。また、いずれの犬においても、ヒトで認められる fan-like extension fiber や、膝関節屈曲時に生じる靭帯付着部近傍の折り返しは観察できなかった。さらに、犬においては、ヒトで関節鏡視下にて ACL の解剖学的再建術を行う際の重要な目印となる resident's ridge は存在せず (Iwahashi *et al.*, 2010; Shino *et al.*, 2010)、CrCL の付着部領域は平坦な表面を呈していた。これらの所見により、犬において解剖学的再建術を実施する際の CrCL の付着部のランドマ

ークは、ヒトで使用されるものとは異なるということが実証された。

最近になり、犬においても、いくつかの新たな CrCL 再建術が報告されているが (Biskup *et al.*, 2017; Ho-Eckart *et al.*, 2017; Biskup *et al.*, 2015; Snow *et al.*, 2010)、そのほとんどが一重束再建術であり、臨床例では未だ満足いく結果が得られていない (Biskup *et al.*, 2017)。これらの再建術が効果的でない理由のひとつとして、犬の CrMB と CdLB の機能解剖が十分に明らかになっていない点が挙げられる。

過去に、犬の CrCL 全体のフットプリントに関する形態学的研究は行われているが (Bolia *et al.*, 2015; Reichert *et al.*, 2013; Proffen *et al.*, 2012; Arnoczky and Marshall, 1977)、CrMB と CdLB の 2 つの帯に分けてフットプリントを客観的に検証した報告は存在しない。本検討では、犬の大腿骨側と脛骨側における CrMB と CdLB のフットプリントを初めて客観的に示すことができた。これらの結果は、犬において膝関節内での解剖学的再建術を正確に実施するための基準になると思われる。しかし、犬で解剖学的二重束再建術を実施するためには、CrCL を構成する 2 帯の各付着部へ線維束を正確に設置する技術も要求されるため、さらなる研究を行う必要がある。

本検討では、第三の帯ともいえる線維束が CdLB の尾側に認められた。本検討では、この帯が CdLB の一部か、また独立した帯かは、明らかにすることができなかった。また、その機能についても十分に検証することができなかった。

今回認められた帯の詳細を理解するためには、さらなる検討を重ねる必要がある。

過去の報告において、犬の CrCL は、膝関節が屈曲するにしたがって、CrMB が CdLB を巻き込むように捻転することが示されている (Arnoczky and Marshall, 1977; Singleton *et al.*, 1957)。しかし、現在までに、CrCL を構成する各帯内の線維束の配列が、膝関節可動時に変化するか否かは明らかになっていない。本検討では、膝関節可動時に、CrMB と CdLB の各線維束は同じ配列を維持しておらず、屈曲するにしたがってお互いが交差するように捻転することを犬で初めて実証した。これらの結果は、CrCL の各帯の機能を理解するのに重要なだけでなく、膝関節内で解剖学的再建術を実施する際のグラフトの設置方法を考慮する上でも、きわめて意義のある情報を得ることができた。犬の CrCL の各線維束は複雑に捻転しながら機能していることから、CrCL の解剖学的再建術を行う場合、設置するグラフトは二重束では十分でない可能性も示唆された。したがって、各帯の機能を詳細に理解するためには、さらなる検討が必要であろう。

過去の報告において、犬の CrCL の強度は引張試験によって測定されることが多かったが (Comerford *et al.*, 2005)、最近の生体力学的研究では、様々な力を加えた際の膝関節の前後方向の安定性を評価したものが増えてきている (Ho-Eckart *et al.*, 2017; Snow *et al.*, 2010)。本検討では、大腿骨と脛骨に付着している CrCL の靭帯線維の張力を、ヒ

トの研究で用いられている方法に基づいて、荷重測定器を使用して直接的に測定した (Fujii *et al.*, 2017; 久保ら, 2017)。本検討では、様々な膝関節の角度における CrMB と CdLB の張力の変化が確認できただけでなく、各帯内の張力の差も客観的に把握することができた。また、過去の報告と同様に、膝関節伸展時には両帯が緊張し、屈曲時には、CrMB のみが緊張することを客観的に再現することができた (Heffron and Campbell, 1978; Arnoczky and Marshall, 1977)。CrMB 全体と CdLB 全体の張力を比較したところ、全ての膝関節の角度において、一貫して CrMB 全体の方が高い傾向が認められた。さらに、大腿骨側と脛骨側の CrMB の付着部の面積は、CdLB よりも大きかった。これらの結果から、犬の CrCL の張力には、CrMB が大きく貢献している可能性が示唆された。

膝関節を可動させた時に、CrMB の中央内側および中央外側の線維束は常に緊張していたため、これらの線維束が CrMB において重要な役割を果たしていることが示された。一方で、CdLB の張力は、中央外側と尾側の線維束によって緊張が維持されていることが明らかになった。これらの結果は、犬における CrCL 部分断裂の病態を解明する上での一助となり得るかもしれない。さらに、犬で膝関節内にて CrCL の解剖学的再建術を実施するにあたり、様々な膝関節の角度におけるグラフトの張力を決定する際の参考にもなるであろう。

本検討には、研究手法にいくつかの限界がある。本検討では、健常ビーグル犬のみを使用しており、調査した肢は全て屍体から採取した。そのため、犬の品種間での差異や、生体との違いも考慮する必要がある。本検討で行った手法は、大腿骨内側顆や軟部組織が除去されているため、正常な生体内の CrCL と生体力学的に相違する可能性がある。また、膝関節の角度として、本検討では 180°での計測を行っているが、それは生理学的に膝関節を完全に伸展させた際の角度よりも大きい。これらの理由から、本検討で測定した靭帯線維の張力は、本来の生理的な張力とは異なる可能性がある。本検討では、靭帯線維の張力を測定する際に一部の帯や線維束を切除した状態で計測を行ったが、それらが存在していた時には靭帯線維間の相互作用によって計測値が異なっていたかもしれない。しかし、本検討では、同じ条件で靭帯張力を測定したため、様々な膝関節の角度での各帯と各線維束の張力を比較することは可能であった。犬で CrCL の解剖学的再建術をより正確に行うためには、CrCL の機能解剖に関するさらなる研究が必要であろう。

本検討では、犬の CrMB と CdLB の付着部位を客観的に示すことができた。また、犬の CrCL は伸展時には両帯が緊張し、屈曲時には CrMB のみが緊張することが客観的に再現することができた。さらに、CrMB と CdLB の張力の差異や、関節可動に伴う各線維束の張力の強弱も確認することができ、新たな知見を得ることができた。本検討は、ビー

グル犬での検証ではあるものの、これらの結果は犬における CrCL の生体力学の理解に貢献するばかりでなく、膝関節内での CrCL の解剖学的再建術を実施するための基礎的なデータとして大いに役立つものと思われる。

第二章

犬の後十字靭帯の前外側帯および後内側帯の機能解剖

2.1. 緒言

犬の後十字靭帯（caudal cruciate ligament : CaCL）は、前十字靭帯（cranial cruciate ligament : CrCL）よりも少し太く、脛骨の尾側への変位と内旋を制御し、膝関節の過伸展を防ぐとされている（Arnoczky and Marshall, 1977）。CaCL の断裂は、しばしば重度の外傷によって引き起こされ、一般的に犬では膝関節の他の靭帯損傷と同時に発生し、複合靭帯損傷として生じることが多い（Vasseur, 2003; Johnson and Olmstead, 1987）。

過去に、CaCL を実験的に切離したところ明らかな跛行は生じなかったという報告があるが（Johnson and Olmstead, 1987）、一般的に CaCL を断裂した際には後肢の跛行が一貫して認められ、軽度な跛行から完全に体重負重のできない重度な跛行に至るまで様々な臨床徴候を呈する（Vasseur, 2003）。犬の CaCL 断裂の外科的治療法としては、膝関節の安定化を目的として関節包外制動術が行われてきたが（DeCamp *et al.*, 2016; DeAngelis and Betts, 1973）、現在のところ満足のいく結果は得られていない（DeCamp *et al.*, 2016; Egger, 1990）。前章でも述べたが、最近では CrCL 断裂の外科的治療法として、脛骨高平部水平化骨切り術（tibial plateau leveling osteotomy: TPLO）が数多く実施されており、施術により CaCL への負荷が増大することが知られているが（Warzee *et al.*, 2001）、CaCL の機能への影響については未だ不明な点が多い。そ

のような背景があるのにも関わらず、犬の CaCL の機能解剖に関する研究はほとんど行われておらず、その詳細を把握できていないのが現状である。

一方で、医学領域においては、後十字靭帯（posterior cruciate ligament: PCL; ヒト）の機能解剖に関する研究が数多く行われている。PCL は、前外側帯（anterolateral bundle : ALB ; ヒト）と後内側帯（posteromedial bundle ; PMB ; ヒト）で構成されており（Race and Amis, 1994; Girgis *et al.*, 1975）、膝関節を屈曲させた際には ALB が、伸展させた際には PMB が緊張することが明らかになっている（Harner *et al.*, 1995）。さらに、PCL の内側の靭帯線維は脛骨の内旋を、外側の靭帯線維は脛骨の外旋を制御していることも実証されている（Amis *et al.*, 2003）。そして、PCL の主な安定化機構は、ALB が担っていることが確認されている（Race and Amis, 1994）。

犬の CaCL も、ヒトと同様に、前外側帯（craniolateral bundle : CrLB）と後内側帯（caudomedial bundle : CdMB）の 2 つの帯で構成されている（Arnoczky and Marshall, 1977; Johnson and Hulse, 2002）。過去に、大腿骨側と脛骨側における CaCL 全体の付着部を主観的に評価した報告はあるが（Arnoczky and Marshall, 1977）、2 つの帯に分けて別々に検証を行った報告は未だ存在しない。犬の CaCL は、膝関節を可動させた際に 2 つの帯が互いに捻じれ合い、屈曲および伸展の両方で関節運動

を支えていることが明らかになっている (Arnoczky and Marshall, 1977)。しかし、膝関節可動時における各帯内の線維束の配列の変化を観察した報告は見当たらない。現在までに、犬の CaCL の張力を主観的に評価した研究はあるものの (Arnoczky and Marshall, 1977)、膝関節可動時における靭帯線維の張力を客観的に評価した報告は存在しない。

そこで、本章では、CaCL の機能解剖を詳細に把握する目的で、(1) 犬の CaCL における CrLB と CdMB の付着部領域の形態の観察、(2) 各帯の付着部の面積と位置の客観的な測定、(3) 各帯内の線維束の走行と膝関節可動時における配列の変化に関する主観的な評価、(4) 膝関節可動時における靭帯線維の張力の客観的な測定を行った。

2.2. 材料および方法

2.2.1. 実験手順

本検討は、他の目的のために安楽死された健常ビーグル犬（北山ラベス、伊那市、長野県）の左後肢、12 肢を使用して行った（日本大学動物実験委員会:承認番号 AP13B004、2013 年）。本検討で使用したビーグル犬は、全て成犬であり（平均：3.4±1.6 歳）、体重は 8.2～13.1 kg（平均：10.2±1.9 kg）、雄と雌が各々 6 頭であった。

過去のヒトでの研究にしたがって (Hara *et al.*, 2009)、軟部組織を除去した後に、大腿骨外側顆を切除して CaCL 全体を露出させた。最初

に CaCL の大腿骨付着部付近の解剖学的特徴を詳細に観察した (n=12)。観察は、2 人の研究者によって行われ、それぞれが解剖学的特徴を確認して記録した。本検討では、性別、年齢、体重に関係なく、取得順に最初の 6 肢で CrLB を評価し、残りの 6 肢で CdMB を評価した。

まず、最初の 6 肢においては、CdMB のみを付着部で切除し、大腿骨側と脛骨側における CdMB の付着部の面積および位置を客観的に測定した。次いで、各々の膝関節の角度において、CrLB の形態的特徴を記録した (n = 6)。その後、CrLB を 2 本の線維束に等分割し、膝関節可動時における両線維束の配列の変化を記録した。さらに、CrLB 全体および各線維束の張力を客観的に測定した (n=6)。

残りの 6 肢においては、CrLB を切除し、CrLB の大腿骨側と脛骨側の付着部の面積と位置を客観的に測定した。次いで、CdMB を 4 本の線維束に等分割し、膝関節可動時の各線維束の配列の変化を記録した。さらに、CdMB 全体および各線維束の張力を客観的に測定した (n=6)。

最後に、残存した CrLB または CdMB を切除し、各々の付着部の面積と位置を測定した (各 n= 6、合計 n=12)。なお、CaCL 全体の張力は、CrLB と CdMB を切除する前に測定した。

2.2.2. CaCL の大腿骨側および脛骨側の付着部領域の形態の観察

過去にヒトで報告された方法にしたがって (Hara *et al.*, 2009)、CaCL

の大腿骨付着部領域の形態を観察した。次いで、大腿骨内側顆内側面において、ヒトで認められる **medial intercondylar ridge** および **medial bifurcate ridge** と呼ばれる骨隆起の存在の有無を確認した (n=12)。これらの骨隆起は、ヒトで関節鏡視下で PCL の解剖学的再建術を行う際の見印となっており、**medial intercondylar ridge** は大腿骨付着領域の近位、**medial bifurcate ridge** は CaCL の前方と後方の付着部を分ける位置に存在する骨隆起である (Lopes *et al.*, 2008)。

脛骨付着部領域の形態も、過去のヒトでの研究を参考にして (Tajima *et al.*, 2009) 観察および記録した (n=12)。

2.2.3. CrLB と CdMB の付着部の面積および中心点の位置

本検討では、過去の犬での報告にしたがって (Heffron and Campbell, 1978)、CaCL を 2 つの帯に分割し、脛骨側において頭側に位置する帯を CrLB、尾側に付着している帯を CdMB と定義した (図 2-1)。CrLB および CdMB 以外の帯があれば、その帯の形態と走行を記録した。

大腿骨側における CrLB または CdMB の付着部の面積と中心点の位置を決定するために、CrLB または CdMB の靭帯線維を骨付着部から 0.5 mm 残した位置で No.11 のメスを用いて切除し、骨表面に残存した靭帯線維をカラーインクで染色した。次いで、大腿骨内側顆または顆間窩の各帯の付着部に垂直な位置で写真を撮影し、イメージングソフト

トウェア (Image J; 米国国立衛生研究所 (NIH)、Bethesda、メリーランド州、米国) を用いて、各帯の付着部の面積を客観的に測定した。大腿骨側においては、CrLB 付着部の面積を顆間窩領域の面積で除することによって面積比を算出した。さらに、CdMB 付着部の面積を、関節軟骨の領域を除いた大腿骨内側顆内側面の面積で除することによって面積比を算出し、各帯の面積を比較した (図 2-2 A, B)。

脛骨側においても、各帯の靭帯線維を骨付着部から 0.5 mm 残した部位で切除し、残存した靭帯線維をカラーインクで染色した。次いで、脛骨側の付着部に垂直な位置で写真を撮影し、Image J を用いて各帯の付着部の面積を客観的に測定した。脛骨側では、各帯の付着部の面積を、膝窩切痕と関節軟骨を含む近位脛骨の尾側面の面積で除することによって面積比を算出し、各帯の面積を比較した。(図 2-2C)。

さらに、ヒトでの研究を参考にして (Lorenz *et al.*, 2009)、Quadrant 法を用いて各帯の付着部の中心点の位置を客観的に測定した。最初に、前章と同じ方法で各帯の付着部の中心点を求めた。CrLB においては、測定用の格子状グリッドの近位側と遠位側を顆間切痕の近位縁および遠位縁に重ね、次いで、グリッドの内側と外側が内外側の大腿骨顆の関節軟骨縁に接するように配置した (図 2-3A)。CdMB においては、グリッドの近位側を窩間切痕の近位端 (Blumensaat's line) に重ね、次いで、グリッドの頭側、尾側、遠位側を大腿骨顆の関節軟骨縁に接す

るように配置した (Reichert *et al.*, 2013) (図 2-3B)。いずれにおいても、グリッドに X-Y 座標軸を設置し、各帯の中心点の位置を客観的に測定した (Kawaguchi *et al.*, 2013; Bernard *et al.*, 1997)。

脛骨側の各帯の中心点の位置も、Quadrant 法の変法に基づいて客観的に測定した (Takahashi *et al.*, 2006)。まずは、脛骨側における各帯の中心点を求め、測定用の格子状グリッドを重ね合わせた。その際には、脛骨の近位側、遠位側、内側、外側の骨端に接するようにグリッドを設置した。さらに、グリッドに X-Y 座標軸を設置し、各帯の中心点の位置を客観的に測定した (Takahashi *et al.*, 2006) (図 2-3C)。

2.2.4. 膝関節可動時における各帯内の線維束の配列の変化

最初に、過去のヒトでの報告を参考にして (Hara *et al.*, 2009)、CrLB の靭帯線維を内側と外側の 2 つの線維素束に等分割した (図 2-4)。次いで、CdMB の靭帯線維を、頭側、内側、外側、尾側の 4 つ線維束に等分割した (図 2-4)。各帯の分割は、大腿骨および脛骨を捻転させて各帯を直線状にしてから、キャリパーを用いて行った。次いで、前章と同じ方法で膝関節の角度を測定し、その角度が 180° 、 135° 、 90° 、 40° の時の各線維束の走行および配列の変化を写真で記録した。

2.2.5. 膝関節可動時における靭帯線維の張力の変化

本検討では、荷重測定器（ZTS-20N; 株式会社イマダ、豊橋市、愛知県、日本）を使用して、前章と同じ手法で靭帯線維の張力を客観的に測定した（図 2-5）。測定方法のプロトコールは、他のビーグル犬の膝関節を用いた予備的検討を基に決定した。最初に、大腿骨と脛骨の角度が 180° となるように固定した。まずは、CaCL の靭帯線維にフックをかけて、垂直方向に 0.1N で張力を加えた後に 0 補正を行った。次いで、垂直方向に 1 mm の牽引し、CaCL 全体、CrLB 全体、CdMB 全体、それぞれの帯の各線維束の張力を測定した（図 2-5）。さらに、大腿骨と脛骨の角度が、 135° 、 90° 、 40° となる位置においても、同様に測定を行った。全ての測定値は、大腿骨と脛骨の角度が 180° における CaCL 全体の張力を 100%として、その比率を算出することで評価した。

2.2.6. 統計学的分析

本検討で得られたデータは、平均値±標準偏差として示した。結果の解析には、統計分析ソフトウェア（GraphPad Prism 6; GraphPad Software, Inc., La Jolla, カリフォルニア州、米国）を使用した。張力に関するデータは、二元配置分散分析（two-way ANOVA）を用いて比較し、事後検定として Tukey の多重比較を行った。本検討では、 $p < 0.05$ をもって有意差ありと判定した。

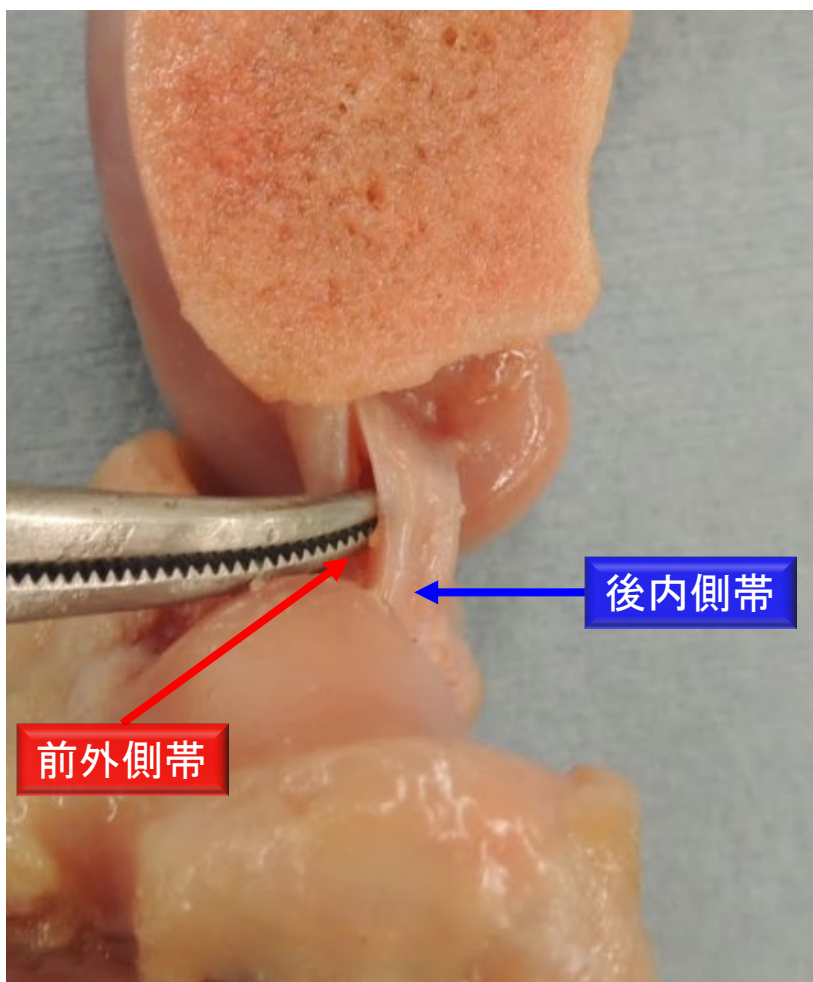


図 2-1 犬の後十字靭帯 (CaCL) の前外側帯 (CrLB) と後内側帯 (CdMB)
本検討では、脛骨側において頭側に付着している帯を前外側帯 (CrLB: 赤色)、尾側に付着している帯を後内側帯 (CdMB: 青色) と定義した。

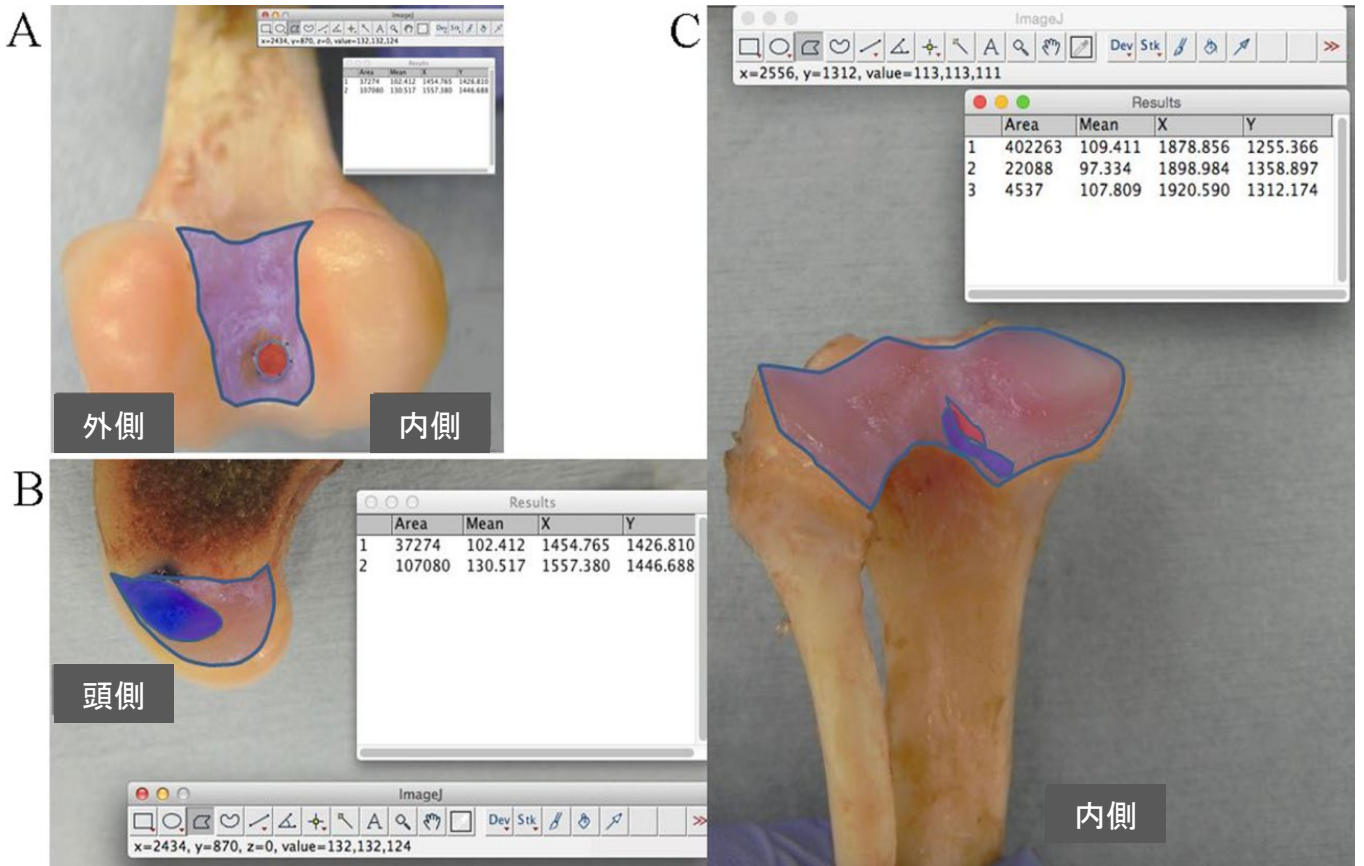


図 2-2各帯の付着部の面積比の算出方法

各帯の付着部の面積比は、各帯の付着部に垂直な位置で写真を撮影し、イメージングソフトウェア（Image J）を使用して客観的に計測した。

(A) 大腿骨側の前外側帯（CrLB）の付着部の面積（赤色）を顆間窩領域の面積（青色の透明領域）で除することによって面積比を算出した。(B) 大腿骨側の後内側帯（CdMB）の付着部の面積（青色）を、関節軟骨の領域を除いた大腿骨内側顆内側面の面積（青色の透明領域）で除することによって面積比を算出した。

(C) 脛骨側では、前外側帯（CrLB: 赤色）または後内側帯（CdMB: 青色）の付着部の面積を、膝窩切痕と関節軟骨を含む近位脛骨の尾側面の面積（青の透明領域）で除することによって面積比を算出した。

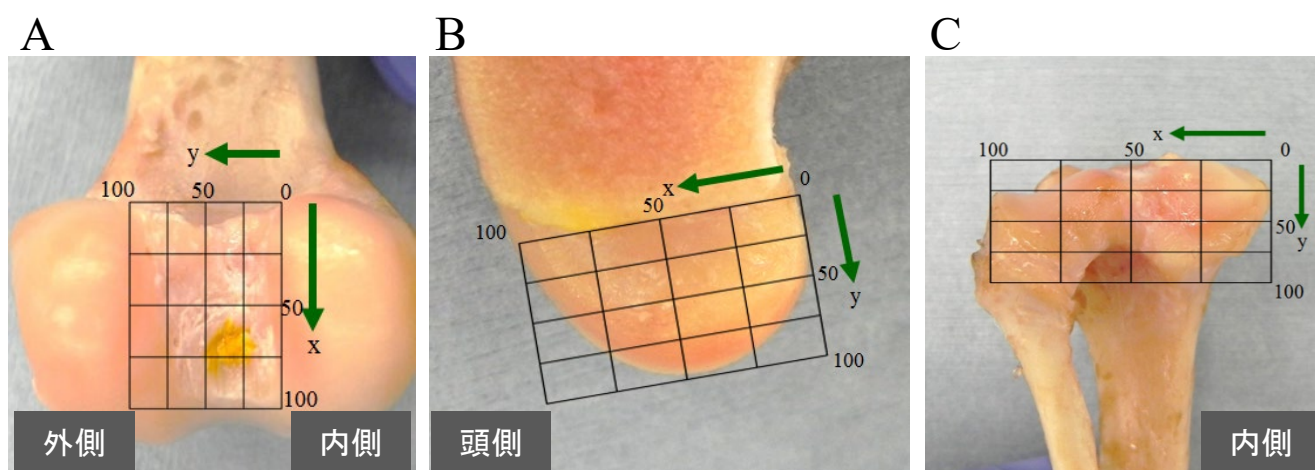
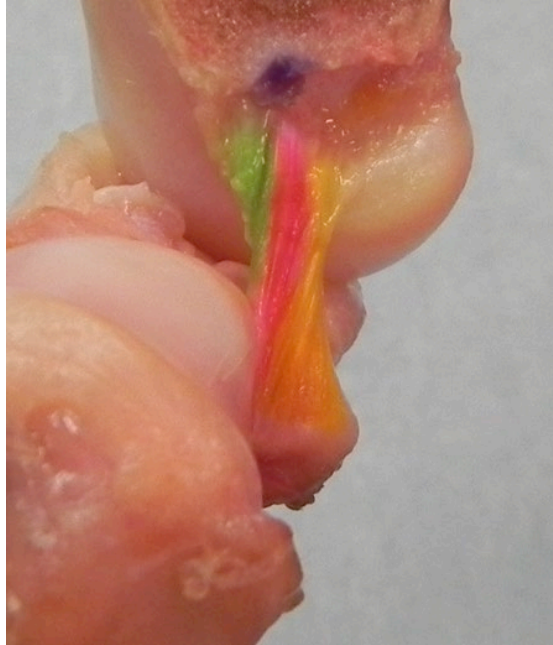


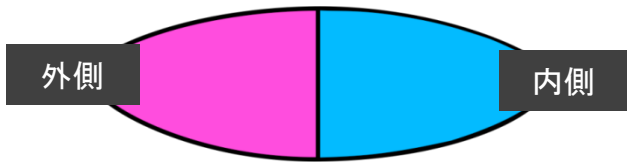
図 2-3 各帯の付着部の中心点の位置の測定方法

前外側帯 (CrLB) と後内側帯 (CdMB) の付着部の中心点の位置をQuadrant法またはその変法を用いて測定した。

(A) 大腿骨側における前外側帯 (CrLB) の測定方法：測定用の格子状グリッドを、顆間切痕の近位縁および遠位縁、内外側の大腿骨顆の関節軟骨縁に接するように配置し、上図の座標軸を用いて測定を行った。(B) 大腿骨側における後内側帯 (CdMB) の測定方法：グリッドを顆間切痕の近位端 (Blumensaat's line)、大腿骨顆の頭側、尾側、遠位側の関節軟骨縁に接するように配置し、上図の座標軸を用いて測定を行った。(C) 脛骨側の測定方法：脛骨の近位側、遠位側、内側、外側の骨端に接するようにグリッドを配置し、上図の座標軸を用いて測定を行った。



前外側帯



後内側帯

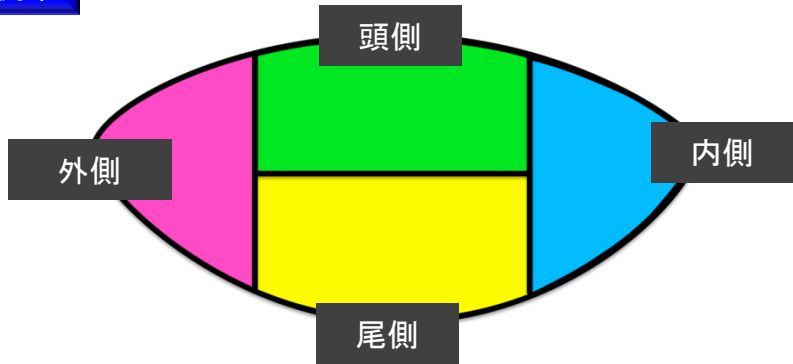
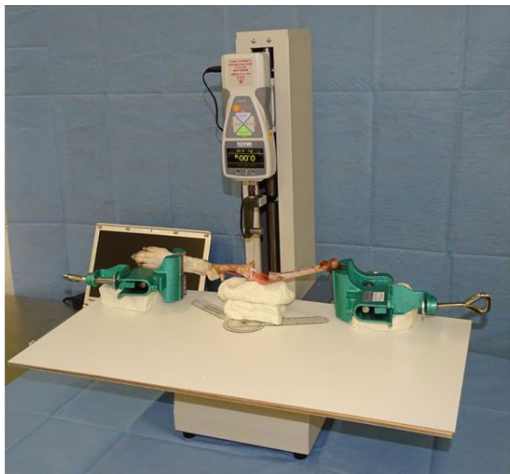


図 2-4 各帯内の線維束の分割方法
 前内側帯 (CrLB) の靭帯線維は、内側と外側の2つの線維束に等分割した。後内側帯 (CdMB) の靭帯線維は、頭側、内側、外側、尾側の4つ線維束に等分割した。

A



B

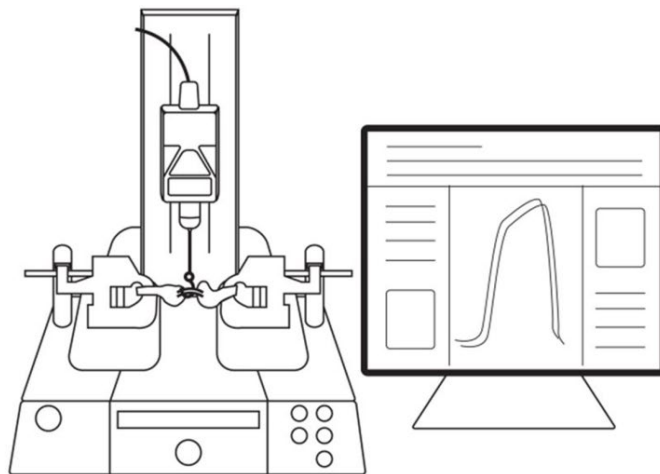


図 2-5 靭帯線維の張力の測定方法

本検討では、荷重測定器（ZTS-20N; 株式会社イマダ）を使用して、後十字靭帯（CaCL）全体、前外側帯（CrLB）全体、後内側帯（CdMB）全体、両帯の各線維束の張力を客観的に測定した。

(A) 実際に測定を行っているところ、(B) 模式図。

2.3. 結果

2.3.1. CaCL の大腿骨側および脛骨側の付着部領域の形態の観察

犬においても、大腿骨付着部領域に、ヒトで認められる medial intercondylar ridge が存在していたが（図 2-6）、medial bifurcate ridge と呼ばれる骨隆起は全頭で確認することができなかった。ヒトでは PCL の両帯がともに大腿骨内側顆の内側面に付着しているが、犬では CaCL の CrLB が顆間窩に付着しており、ヒトでの解剖所見と大きく異なっていた（図 2-7）。一方で、CdMB は、ヒトと同様に、大腿骨内側顆の内側面に付着していた（図 2-7）。

脛骨側においては、CrLB と CdMB の両帯が膝窩切痕の内側部に付着しており、ヒトの PCL の各帯の付着部と相似していた。

2.3.2. CrLB および CdMB の付着部の面積および中心点の位置

大腿骨側における、CrLB の付着部の面積を顆間窩領域の面積で除した値は $4.6 \pm 0.9\%$ （図 2-8A）、CdMB の付着部の面積を関節軟骨の領域を除いた大腿骨内側顆内側面の面積で除した値は $37.3 \pm 3.3\%$ であった（図 2-8B）。脛骨側では、CrLB または CdMB の付着部の面積を、近位脛骨尾側面の関節軟骨を含めた面積で除した値は、各々 $1.5 \pm 0.4\%$ および $6.9 \pm 1.5\%$ であった（図 2-8C）。

大腿骨側における CrLB 付着部の中心点は、大腿骨の顆間窩の近位

端から遠位側に向かって $66.5 \pm 6.4\%$ 、大腿骨の顆間窩の内側縁から外側に向かって $34.9 \pm 6.7\%$ の位置に存在していた (図 2-9A)。一方で、CdMB 付着部の中心点は、大腿骨内側顆の尾側縁から頭側に向かって $57.6 \pm 2.5\%$ 、顆間切痕の近位端 (Blumensaat's line) から遠位側に向かって $31.5 \pm 2.7\%$ の位置に存在していた (図 2-9B)。

脛骨側における CrLB 付着部位の中心点は、脛骨の内側縁から外側に向かって $33.1 \pm 2.4\%$ 、脛骨近位端の顆間結節から遠位に向かって $60.9 \pm 3.8\%$ の位置に存在していた。一方で、CdMB 付着部の中心点は、脛骨の内側縁から外側に向かって $37.4 \pm 2.1\%$ 、脛骨近位端の顆間結節から遠位に向かって $67.3 \pm 3.2\%$ の位置にあり、CrLB 付着部の中心点の位置よりも尾外側に存在していた (図 2-9C)。

本検討では、12 肢中 2 肢で CrLB および CdMB 以外の第三の帯ともいえる線維束が観察された。これらの帯は、膜状の形態を呈しており、部分的に CaCL と融合しながら、大腿骨の顆間窩の尾側から膝窩切痕の内側縁に向かって走行していた (図 2-10)。

2.3.3. 膝関節可動時における各帯内の線維束の配列の変化

膝関節を伸展位から屈曲させていくにしたがって、全ての CaCL の線維束が外旋し、CrLB 内と CdMB 内の各線維束の配列も互いが交差するように捻転していく様子が観察された (図 2-11)。

2.3.4. 膝関節可動時における各帯と線維束の張力の変化

CaCL 全体と CdMB 全体の張力は、いずれの膝関節の角度においても、明らかな変化は認められなかった。一方で、CrLB 全体の張力は、他と比較して伸展位で有意に低い値を示しており ($p < 0.05$)、屈曲するにしたがって上昇していく傾向が認められた (図 2-12A)。CrLB においては、いずれの膝関節の角度においても、各線維束の張力に差は認められなかった (図 2-12B)。CdMB では、尾側の線維束が伸展時の張力の維持に貢献していることが明らかになった (図 2-12C)。

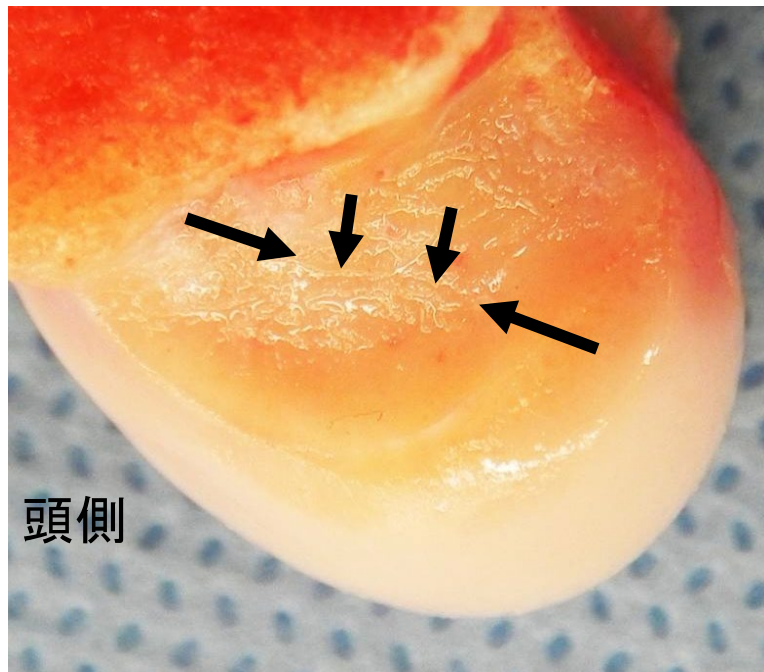


図 2-6 大腿骨側の付着部領域の形態
犬においても、大腿骨付着部領域に、ヒトで認められる
medial intercondylar ridge (矢印) が存在していた。

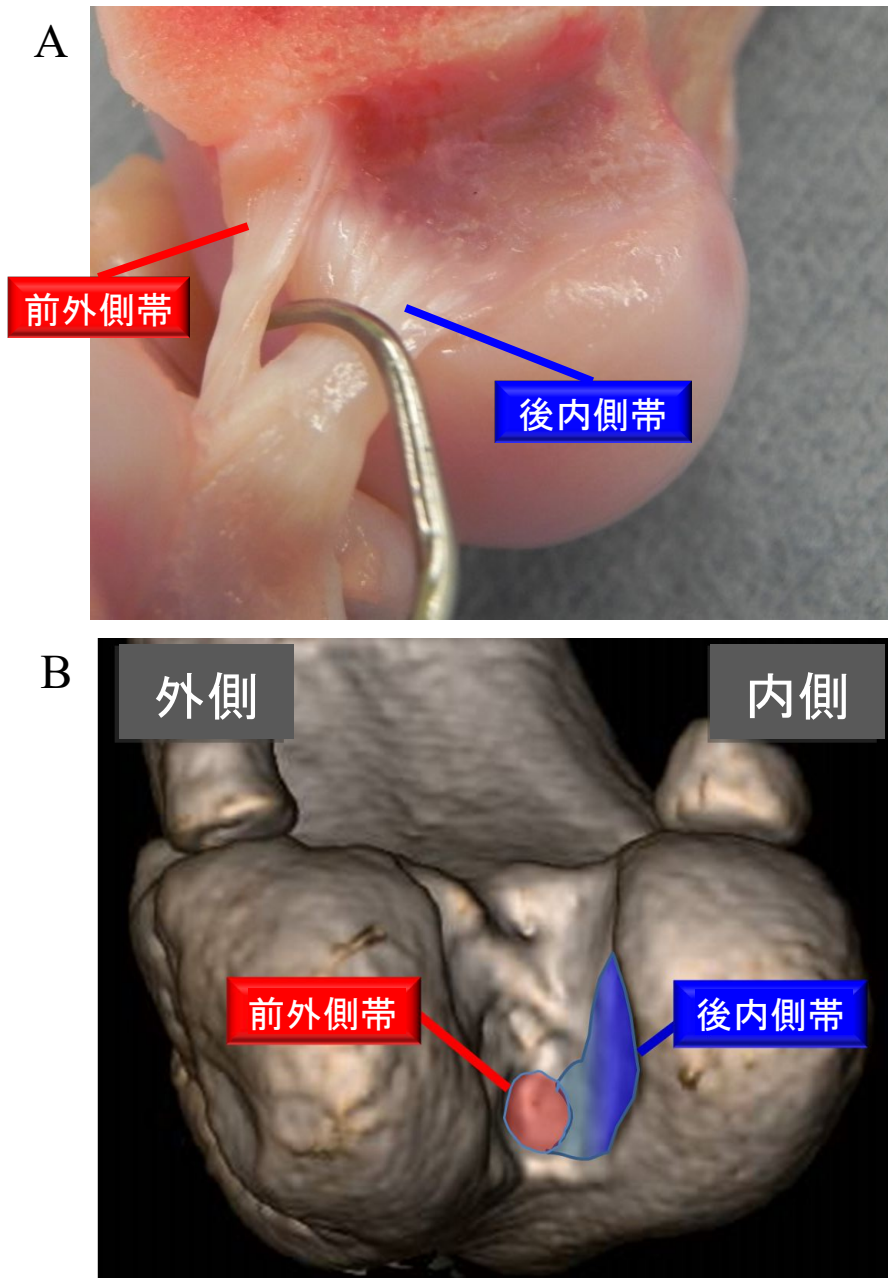


図 2-7 大腿骨側における各帯の付着位置

犬の後十字靭帯 (CaCL) の後内側帯 (CdMB: 青色) は、ヒトと同様に、大腿骨内側顆の内側面に付着していた。しかし、前外側帯 (CrLM: 赤色) は、ヒトと異なり、顆間窩に付着していた。

(A) CaCLの各帯を分離して付着部を観察した像。

(B) CT画像上に各帯の付着範囲を示した像。

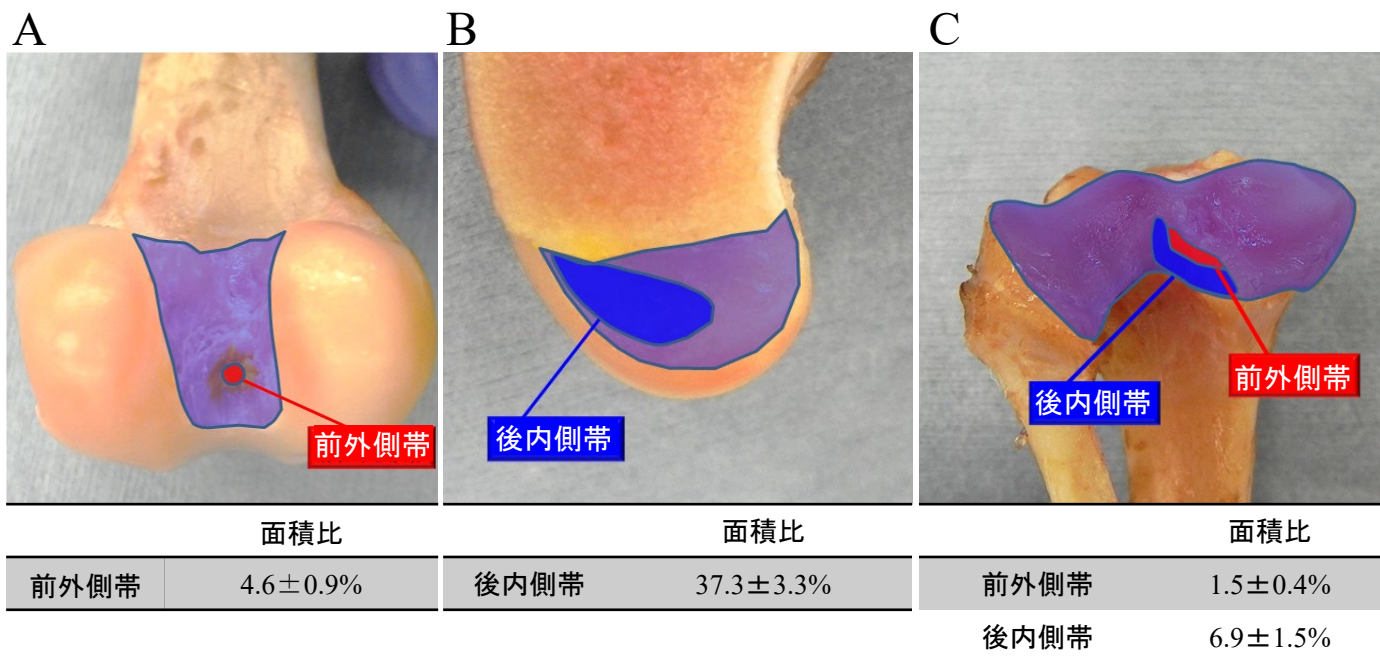
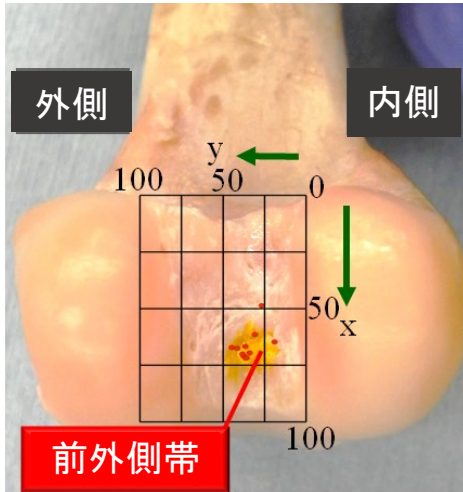


図 2-8 各帯の付着部の面積

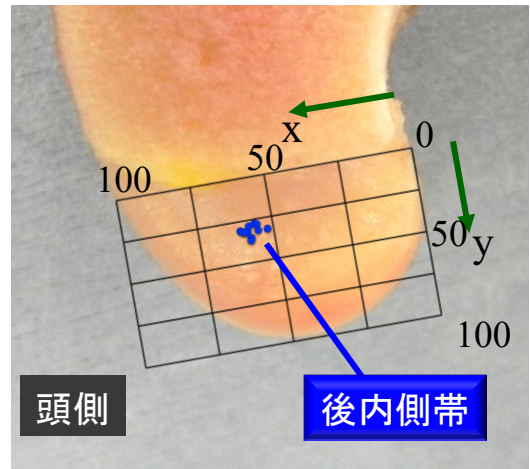
(A) 大腿骨側における前外側帯 (CrLB: 赤色) の付着部の位置および面積比。(B) 大腿骨側における後内側帯 (CdMB: 青色) の付着部の位置および面積比。(C) 脛骨側における前外側帯 (CrLB: 赤色) および後内側帯 (CdMB: 青色) の付着部の位置および面積比。大腿骨側および脛骨側のいずれにおいても、前外側帯 (CrLB) の付着部の面積は、後内側帯 (CdMB) の付着部の面積よりも小さいことが確認された。

A



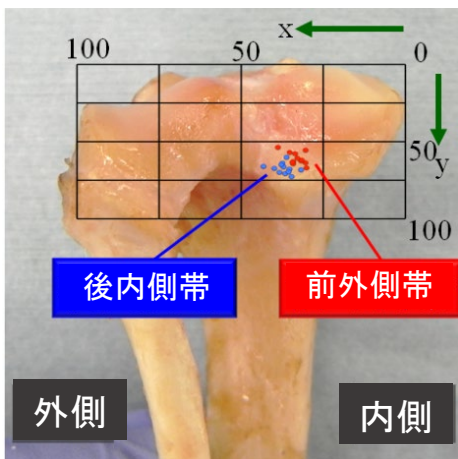
	近位端から	内側縁から
前外側帯	66.5±6.4%	34.9±6.7%

B



	尾側縁から	Blumensaat's lineから
後内側帯	57.6±2.5%	31.5±2.7%

C



	内側縁から	顆間結節から
前外側帯	33.1±2.4%	60.9±3.8%
後内側帯	37.4±2.1%	67.3±3.2%

図 2-9 大腿骨側および脛骨側における各帯の中心点の位置

(A) 顆間窩領域における前外側帯 (CrLB: 赤色) 付着部の中心点の位置。(B) 大腿骨内側顆内側面における後内側帯 (CdMB: 青色) 付着部の中心点の位置。(C) 脛骨側における前外側帯 (CrLB: 赤色) と後内側帯 (CdMB: 青色) 付着部の中心点の位置。後内側帯 (CdMB) の中心点は、前外側帯 (CrLB) の中心点の位置よりも尾外側に位置していた。

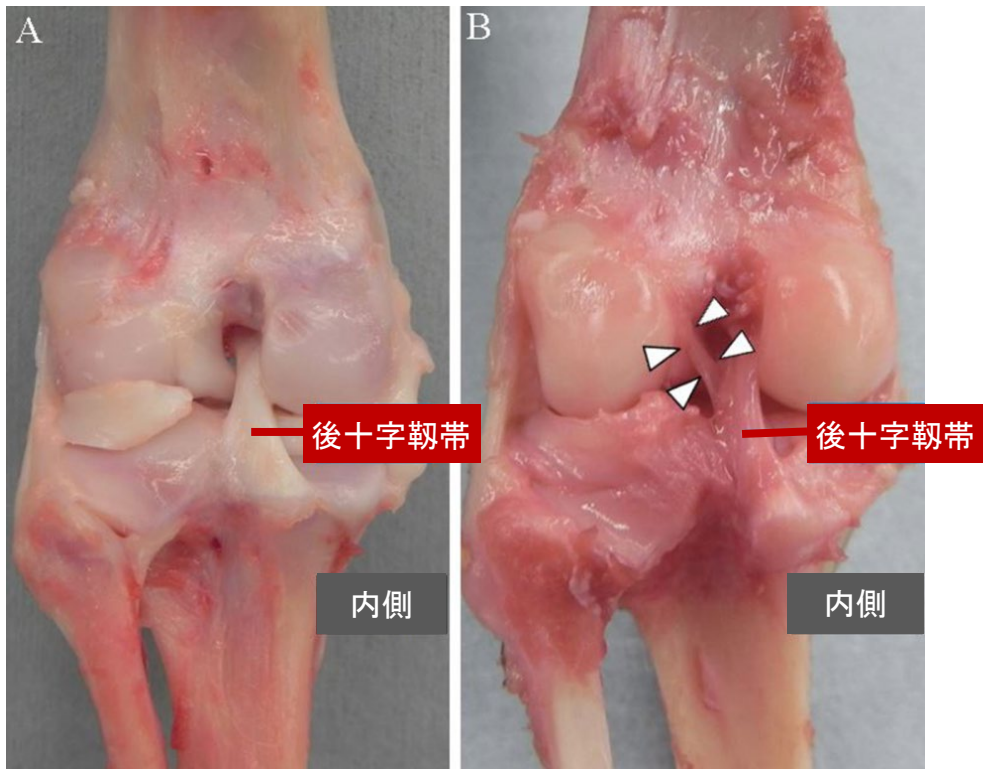


図 2-10 後十字靭帯 (CaCL) の前外側帯 (CrLB) と後内側帯 (CdMB) 以外に認められた帯
 (A) 通常の後十字靭帯 (CaCL) の外観、(B) 大腿骨の顆間窩の尾側から膝窩切痕の内側縁に向かって走行している膜状の線維束 (矢頭) が認められた。

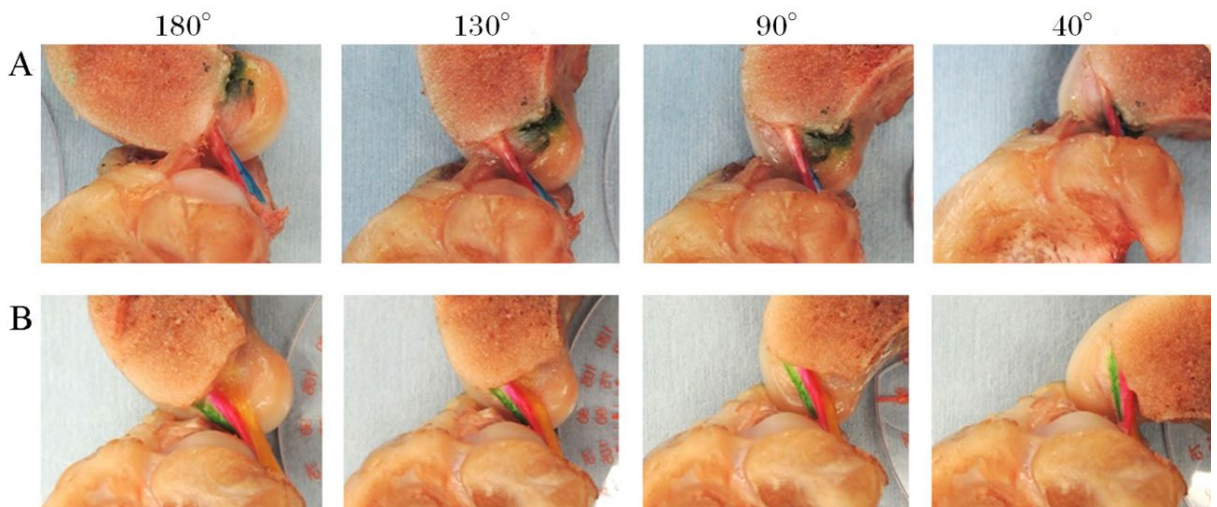


図 2-11 膝関節可動時における各帯内の線維束の配列の変化
 (A) 前外側帯 (CrLB)、(B) 後内側帯 (CdMB)。膝関節を伸展位から屈曲させていくにしたがって、各帯内の線維束が外旋を伴いながら互いが交差するように捻転していく様子が観察された。

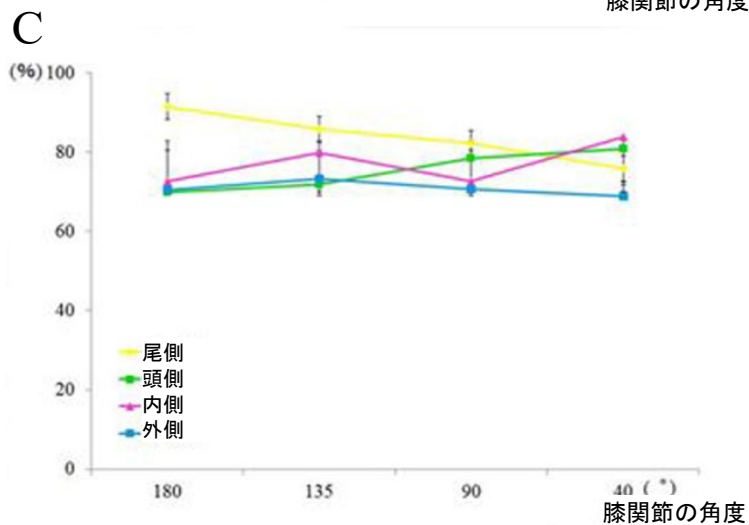
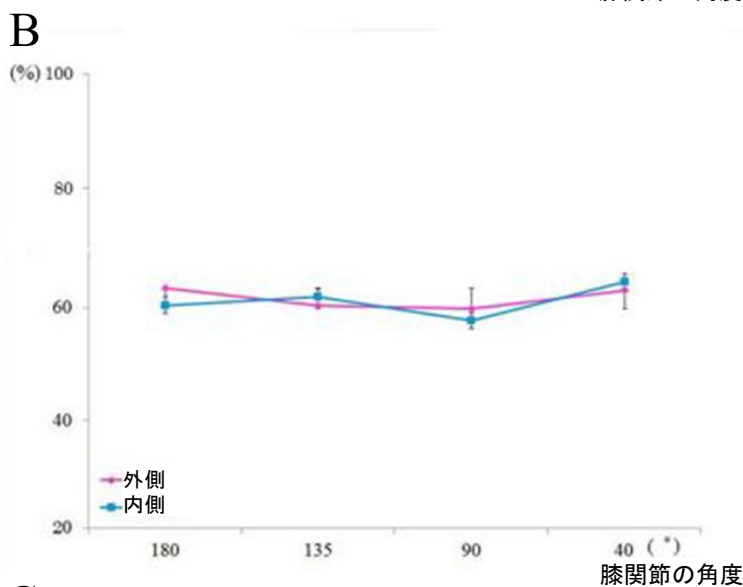
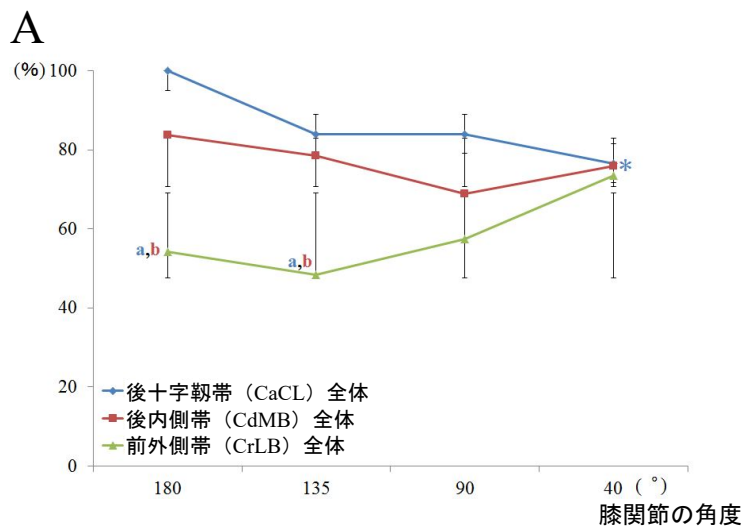


図 2-12 膝関節可動時における靭帯線維の張力の変化

(A) 後十字靭帯 (CaCL) 全体、前外側帯 (CrLB) および後内側帯 (CdMB) 全体の張力 ($p < 0.05$, *は 180° の値と比較した場合に有意差あり、aは同一角度においてCaCL全体を比較した場合に有意差あり、bはCdMB全体を比較した場合に有意差あり)。

(B) CrLBの各線維束の張力。(C) CdMBの各線維束の張力。縦軸は、全ての測定値を膝関節の角度が 180° 時のCaCL全体の張力を100%としての比率として示した。横軸は、各々の膝関節の角度を示した。

2.4. 考察

本章では、以下の項目を明らかにすることができた：(1) 犬の CaCL の付着部領域の解剖は、**medial bifurcate ridge** に相当する骨隆起が認められないなど、ヒトの付着部領域の形態とは異なっていた。(2) 大腿骨側において、CdMB は大腿骨内側顆の内側面に付着していたが、CrLB は顆間窩に付着していた。(3) 脛骨側において、CrLB の付着部は CdMB よりも頭内側に位置していた。(3) 膝関節可動時に、CrLB と CdMB の各線維束は複雑に捻転していった。(4) CdMB 全体の張力は、すべての膝関節の角度において、CrLB 全体の張力よりも高い傾向があった。

ヒトで PCL の解剖学的再建術を実施する際には、**medial intercondylar ridge** と **medial bifurcate ridge** がグラフト設置時の重要な目印となる (Lopes *et al.*, 2008)。犬において、これらの骨隆起の有無を検証したところ、大腿骨内側顆の内側面には **medial bifurcate ridge** は存在せず、CaCL の付着部領域には各帯を隔てる骨隆起がないことが明らかになった。本検討の結果から、犬において CaCL の解剖学的再建術を実施する際には、ヒトと同じ目印が使用できないことが明確になった。

過去の犬での研究において、CaCL の付着部を主観的に観察した報告がある (Arnoczky and Marshall, 1977)。その報告では、CaCL 全体の付着部のみが検討されており、大腿骨側では顆間窩から大腿骨内側顆の内側面にかけて付着し、脛骨側では膝窩切痕に付着することが確認さ

れている。しかし、我々の知る限り、犬の CaCL を CrLB と CdMB の各帯に分けて、各々の付着部位を正確に示している報告は存在しない。本検討では、CrLB が大腿骨の顆間窩に付着し、CdMB は大腿骨内側顆の内側面に付着することを初めて明らかにした。脛骨側においては、CrLB と CdMB の両帯がともに膝窩切痕の内側に付着しており、各々の帯の正確な付着部位を把握することができた。犬においても、CaCL の付着部位を詳細に検討することは、CaCL の機能を理解するのに役立つだけでなく、新たな膝関節安定化術の開発にも貢献するであろう。

過去の報告では、犬の CaCL には頭側により太い帯があると報告されており (Johnson and Hulse, 2002; Arnoczky and Marshall, 1977)、CrLB の方が太いことが示唆されていた。しかし、本検討では、CdMB の付着部の面積は、大腿骨側と脛骨側ともに CrLB の付着部の面積よりも大きく、主観的な観察においても CdMB の方が太かった。したがって、犬の CaCL では、CdMB が主たる帯である可能性が示された。

本検討では、第三の帯ともいえる線維束が顆間窩の尾側から膝窩切痕の内側縁に向かって認められた。本検討では、この帯が CrLB または CdMB の一部か、また独立した帯かは、明らかにすることができなかった。また、その機能についても十分に検証することができなかった。今回認められた帯の詳細を理解するためには、さらなる検討を重ねる必要がある。

犬の CaCL は、膝関節が屈曲するにしたがって、各帯が巻き込むよ

うに捻転することが過去に報告されているが (Arnoczky and Marshall, 1977)、各帯内の線維束の配列の変化について検討した報告は存在しない。本検討では、CrLB と CdMB の各線維束が、膝関節可動時に同じ配列を維持しておらず、屈曲するにしたがって互いが交差するように捻転することを犬で初めて明らかにした。これらの結果は、犬で CaCL の靭帯線維の構造と機能の関係を考慮する上での重要な基礎データとなった。

過去の研究において、ヒトの ACL や犬の CrCL の強度は、引張試験によって検討が行われていることが多い (Comerford *et al.*, 2005; Amis *et al.*, 2003)。ヒトの PCL の引張強度は ACL よりも強く、2 倍の強度があることが報告されている (Amis *et al.*, 2003)。犬の CaCL も同様に、CrCL より引張強度が高いことが成書に記載されている (Schulz *et al.*, 2019)。本検討では、引張強度ではなく、CaCL の各帯内の張力分布を把握する目的で、靭帯線維の張力を直接的に測定した。その結果、様々な膝関節の角度における各帯内の線維束の張力の違いを確認できただけでなく、その張力の変化も客観的に把握することができた。

さらに、重要なこととして、本検討では CrCL の非存在下で CaCL の機械的特性を評価した点が挙げられる。本検討では、過去の報告と同様に、膝関節伸展時には CdMB の方が緊張していた (Johnson and Hulse, 2002; Arnoczky and Marshall, 1977)。CrLB 全体と CdMB 全体の

張力を比較したところ、いずれの膝関節の角度においても、一貫して CdMB の方が高い傾向が認められた。さらに、CaCL 全体と CdMB 全体の張力を比較したところ、いずれの膝関節の角度においても明らかな変化は認められなかった。これらの結果から、犬の CaCL の張力の維持には CdMB が大きく貢献していることが示唆された。さらに、CdMB においては、尾側の線維束が重要な役割を果たしていることも明らかになった。

前章と本章の結果を比較したところ、CrCL の張力は CaCL の張力よりも高かった。一般的に、張力が高い靭帯線維には過剰な負荷が生じる。したがって、これらの結果は、CaCL よりも CrCL の方が断裂しやすいということの一部を支持するものであった。さらに、最近の研究により、犬の CaCL と CrCL の線維束における細胞の形態とその密度の類似点と相違点が明らかにされており、線維束の構造と機能が根本的に異なる可能性も指摘されている (Hayashi *et al.*, 2019)。CrCL の方が断裂しやすいという機序については、引き続き検討を行う必要がある。

本検討には、研究手法にいくつかの限界がある。本検討では、前章と同様に、健常なビーグル犬のみを使用しており、調査した肢は全て屍体から採取した。そのため、犬の品種間での差異や、生体との違いも考慮する必要がある。本検討では、大腿骨外側顆、軟部組織、CrCL の各帯が除去されたため、正常な生体内の CaCL とは生体力学的に相

違える可能性がある。また、膝関節の角度として、本検討では 180°での計測を行っているが、それは生理学的に膝関節を完全に伸展させた際の角度よりも大きい。これらの理由から、本検討で測定した靭帯線維の張力は、本来の生理学的な張力とは異なるかもしれない。本検討では、靭帯線維の張力を測定する際に一部の帯や線維束を切除した状態で計測を行ったが、それらが存在していた時には靭帯線維間の相互作用によって計測値が異なっていたかもしれない。しかし、本検討では、同じ条件で靭帯張力を測定したため、様々な膝関節の角度での各帯と各線維束の張力を比較することは可能であった。犬の CaCL の詳細な機能解剖は、CrCL と比較して未だ不明な点が多い。したがって、犬の CaCL の機能解剖を完全に理解するには、さらなる研究が必要だと思われる。

本検討は、ビーグル犬を用いた検討ではあるが、これらの結果は犬の CaCL の生体力学の理解に貢献するばかりでなく、両十字靭帯の断裂の病因と病態を把握するための一助となるであろう。さらに、脛骨骨切りによる膝関節の機能的安定化術における CaCL の役割だけでなく、膝関節内での CrCL の解剖学的再建術を実施するための基礎的なデータとしても活用できる可能性が高い。

第三章

4D-CT による犬の十字靭帯断裂モデルを用いた 膝関節運動の解析

3.1. 緒言

関節運動を理解することは、正常な関節の動きを把握できるだけでなく、様々な関節疾患の病態や治療法を考慮する上で非常に重要である。医学領域における関節運動の解析は、X線透視画像、コンピューター断層撮影による三次元画像（three-dimensional computed tomography: 3D-CT）、磁気共鳴画像（magnetic resonance imaging: MRI）といった様々な画像や、動作解析装置によって行われており、多くの情報が蓄積されている（Guenoun *et al.*, 2017; Nowakowski *et al.*, 2014; Muhit *et al.*, 2013）。最近になって、CT技術が進歩し、三次元画像を動的に描出する四次元CT（4D-CT）の撮影が可能となり、関節運動の解析に使用され始めている（石井および名倉, 2019; 片岡, 2014）。

現在、犬の運動解析は、歩行動作分析や床反力計（force plate）による評価が中心となっているが、これらの手法では関節運動を直接的に評価することはできない（Andrada *et al.*, 2017; Krotscheck *et al.*, 2016）。近年、トレッドミルとX線透視装置を組み合わせることにより、犬が歩行している際の関節運動を動的に解析できる手法が考案された（Tashman and Anderst, 2003）。本手法は、前十字靭帯（cranial cruciate ligament: CrCL）が断裂している症例における膝関節運動の解析や、術後の膝関節の安定性の評価に用いられ、病態の理解や治療効果の判定に役立っている（Rey *et al.*, 2014）。しかし、これらの手法は二次元で

の解析であり、立体的な情報を得るには限界がある。犬においても、三次元でかつ動的な解析が可能な4D-CTを応用することができれば、より詳細に関節運動を把握できるかもしれない。しかし、犬で4D-CTを用いて関節運動を解析した報告は未だ存在しない。

そこで、本章では、犬の十字靭帯断裂時の膝関節運動を客観的に評価する目的で、屍体膝にて様々な十字靭帯断裂モデルを作製し、4D-CTを用いて三次元でかつ動的に膝関節運動の解析を行った。

3.2. 材料および方法

3.2.1. 対象肢と群設定

本検討は、他の目的のために安楽死された健常ビーグル犬 6 頭（北山ラベス、伊那市、長野県）の左後肢を使用して行った（日本大学動物実験委員会：承認番号 AP17B050、2017 年）。本検討で使用したビーグル犬は、全て成犬であり（平均：3.6±1.5 歳）、体重は 8.2～14.3 kg（平均：11.3±2.1kg）で、雄と雌が各 3 頭であった。

本検討では、正常な靭帯を有する群（Intact 群：n=3）、CrCL の前内側帯（craniomedial bundle: CrMB）のみを断裂させた群（CrMB 群：n=3）、CrCL の後外側帯（caudolateral bundle: CdLB）のみを断裂させた群（CdLB 群：n=3）、CrCL を完全に断裂させた群（CrCL 群：n=3）、CrCL

および後十字靭帯（caudal cruciate ligament: CaCL）を完全に断裂させた群（CrCL+CaCL 群：n=3）の 5 群を設定して検証を行った。

まずは、最初の 3 頭の左後肢を用いて Intact 群の検討を行った。次いで、CrCL の部分断裂モデルを作製する目的で、膝関節を小切開した後 No.11 のメスにて CrMB のみを切除し（図 3-1）、CrMB 群の検討を行った。そして、CdLB を切除することで CrCL の完全断裂モデルを作製し、CrCL 群の検討を行った。さらに、CaCL を完全に切除することで両十字靭帯の完全断裂モデルを作製し、CrCL+CaCL 群の検討を行った。このように、Intact 群、CrMB 群、CrCL 群、CrCL+CaCL 群は、同一個体で検討を行った。

最後に、残りの 3 頭の左後肢を用いて、CrCL の CdLB のみを切除する部分断裂モデルを作製し、CdLB 群の検討を行った。

3.2.2. 4D-CT の撮影方法

4D-CT の撮影には、320 列 Area Detector CT（Aquilion OneTM；キヤノンメディカルシステムズ、大田原市、栃木県、日本）を用いた。全ての撮影は、管電圧が 120 kV、管電流が 80 mA、スキャン速度が 0.275 秒、撮影範囲が 160.0 mm、表示 FOV が 240.0 mm、撮影時間が 6.325 秒、画像スライス厚が 0.5 mm、再構成間隔が 0.5 mm の条件で行った。

まずは、CTの寝台の上で供試犬を仰臥位にし、検出器の幅に後肢が収まるような位置で保定した。次いで、股関節を自然立位の角度で保持した後に大腿部を固定した。さらに、Jaeggerらの関節角度の測定方法を参考に、関節角度計（ゴニオメーター）を用いて膝関節の角度を測定した（図 3-2）。その際には、大腿骨の大転子と外側上顆を結ぶ線と、脛骨の骨幹軸でなす角度を、膝関節の角度として測定を行った（Jaegger *et al.*, 2002）。

膝関節の可動は、適切な被曝防護をした同一操作者が行った。最初に、膝関節の角度を自然立位である 135°に保持した。次いで、肢端に固定したハンドルを用いて、膝関節の角度が 135°から 40°までの範囲で屈曲させながら CT の撮影を行った（図 3-3）。

3.2.3. 撮影データの解析方法

CT 撮影で得られた digital imaging and communications in medicine (DICOM) データを、OsiriX[®] (Pixmeo SARL、ジュネーヴ、スイス) にて Stereolithography (STL) 形式に変換し、3D 画像の再構築を行った。さらに、MeshLab (Institute of the Italian National Research Council、ローマ、イタリア) を用いて解析用の画像を作製し、Image J (米国国立衛生研究所、Bethesda、メリーランド州、米国) にて客観的な測定

を行った。二次元データの解析には、AZE Virtual Place Advance（株式会社 AZE、川崎市、神奈川県、日本）を用いた。

3.2.4. 膝関節可動時における脛骨の前後方向への変位の評価

最初に、大腿骨顆間窩の最尾側点と脛骨粗面の頂点に印を付けて、その2点を結ぶ直線を描いた。次いで、大腿骨と脛骨の側面像を用いて2点間の距離を測定することにより、脛骨の前後方向への変位の程度を評価した（図 3-4）。

3.2.5. 膝関節可動時における脛骨の回旋の評価

まずは、大腿骨の正面像にて、Paley の方法に基づいて解剖軸を描出した（Paley, 2003）。次いで、脛骨が正面となる位置まで画像を回転させ、大腿骨の解剖軸と脛骨粗面の頂点の距離を測定することで、脛骨の回旋の程度を評価した（図 3-5）。

3.2.6. 膝関節可動時における脛骨の内反および外反の評価

大腿脛関節における脛骨の内反および外反の程度は、大腿骨内側顆と外側顆の最遠位端を結んだ線と、脛骨近位の内顆と外顆の窩部を結んだ線でなす角を測定することで評価した（図 3-6）。

3.2.7. 統計学的解析

本検討で得られたデータは、平均値±標準誤差として示した。本検討では、全ての項目について5°ごとに計測して統計学的な解析を行った。結果の解析には、統計分析ソフトウェア（GraphPad Prism 6; GraphPad Software Inc., La Jolla, カリフォルニア州、米国）を使用した。得られたデータは、一元配置分散分析（one-way ANOVA）を用いて比較し、事後検定として Tukey の多重比較を使用した。本検討では、 $p < 0.05$ をもって有意差ありと判定した。

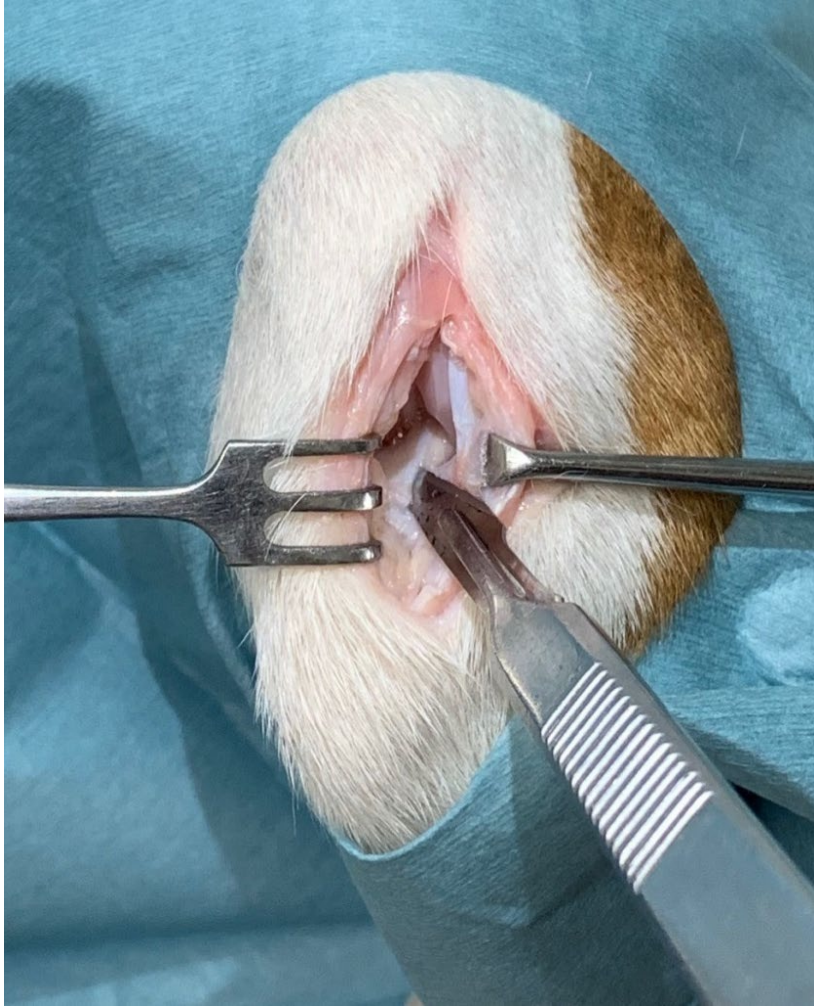


図 3-1 十字靭帯断裂モデルの作製

膝関節を小切開した後に、No.11のメスを用いて各々の靭帯線維を切除することで、十字靭帯の部分断裂および完全断裂モデルを作製した。



図 3-2 膝関節の角度の測定

本検討では、Jaeggerらの関節角度の測定方法を参考に、関節角度計（ゴニオメーター）を用いて膝関節の角度を測定した。

A



B



図 3-3 4D-CT撮影時における膝関節の可動方法

肢端に固定したハンドルを用いて、膝関節を屈曲させながらCTの撮影を行った。

(A) 膝関節を自然立位の角度で伸展させているところ。

(B) 膝関節を屈曲させているところ。

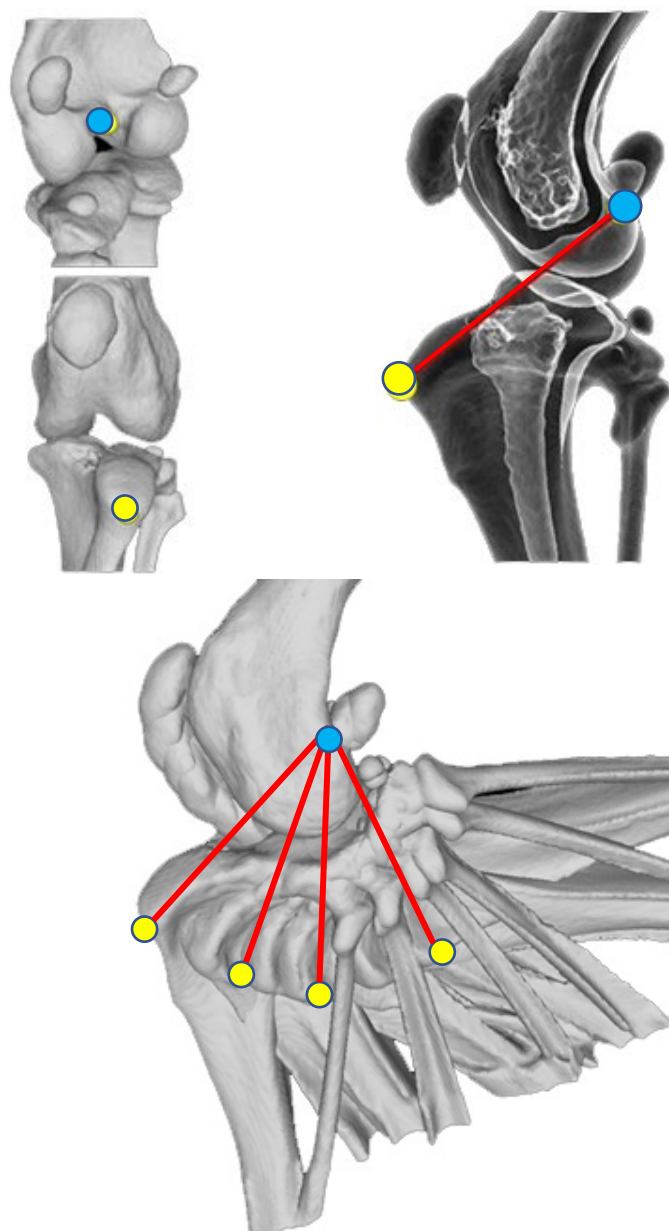


図 3-4 膝関節可動時における脛骨の前後方向への変位の評価
 脛骨の前後方向の変位は、大腿骨顆間窩の最尾側点（青色丸）と、脛骨粗面の頂点（黄色丸）の距離を測定することで評価した。

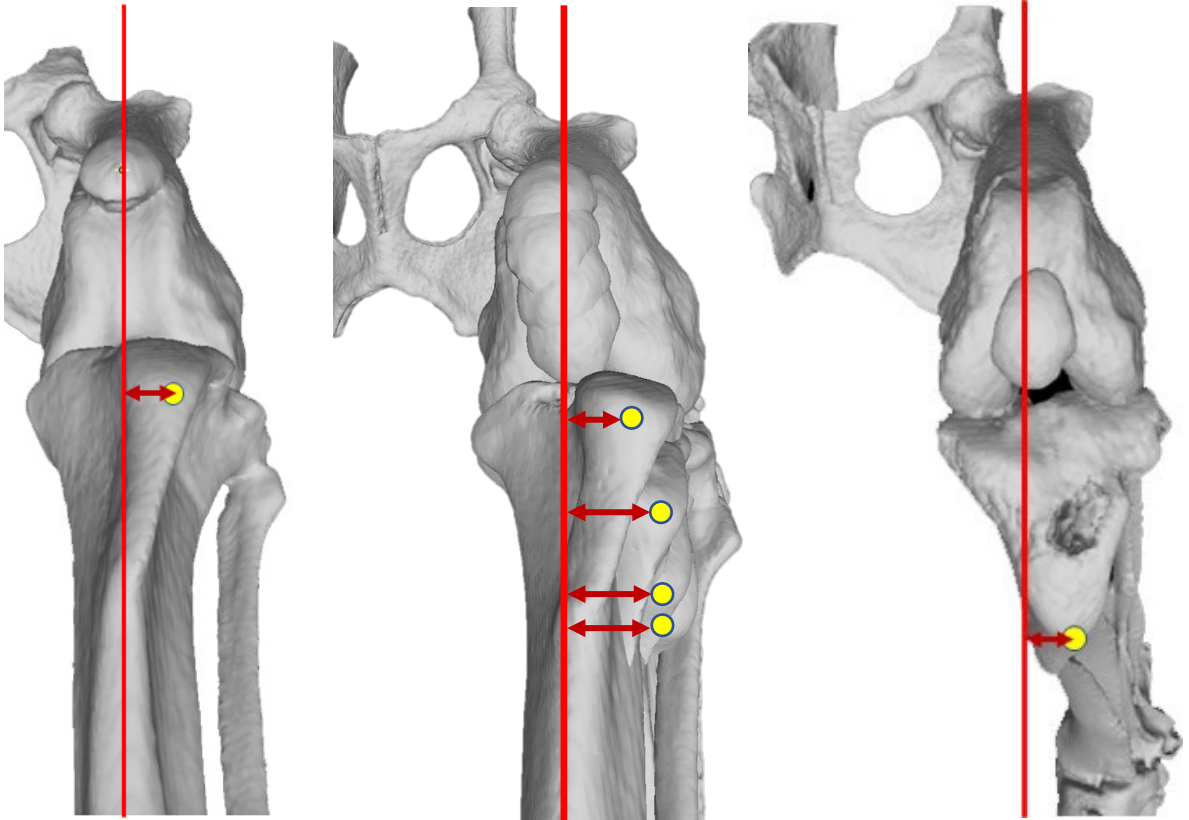


図 3-5 膝関節可動時における脛骨の回旋の評価

脛骨の回旋の程度は、大腿骨の解剖軸（赤線）と脛骨粗面の頂点（黄色丸）との距離を計測することで評価した。

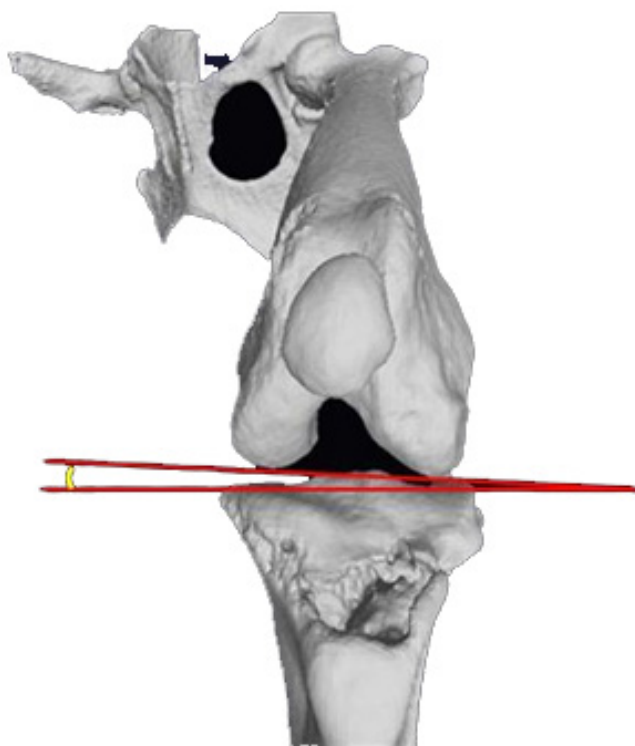


図 3-6 膝関節可動時における脛骨の内反および外反の評価

脛骨の内反および外反の程度は、大腿骨内側顆と外側顆の最遠位端を結んだ線と、脛骨近位の内顆と外顆の窩部を結んだ線でなす角度を測定することで評価した。

3.3. 結果

3.3.1. 膝関節可動時における脛骨の前後方向への変位

Intact 群においては、いずれの膝関節の角度においても、大腿骨顆間窩の最尾側点と脛骨粗面の距離は変わらず、脛骨の前方および後方への変位は認められなかった（図 3-7）。CrMB 群と CdLB 群においても、Intact 群と同じ距離を保っており、いずれの膝関節の角度においても明らかな脛骨の前方および後方への変位は認められなかった（図 3-7）。一方で、CrCL 群と CrCL+CaCL 群においては、いずれの膝関節の角度においても、大腿骨顆間窩の最尾側点と脛骨粗面の距離が大きい傾向があり、Intact 群、CrMB 群、CdLB 群に比べ明らかな脛骨の前方への変位が認められた（図 3-7）。脛骨の前方変位の程度は、CrCL+CaCL 群において最も大きい傾向が認められた（図 3-7）。

3.3.2. 膝関節可動時における脛骨の回旋

膝関節可動時における脛骨の回旋の程度を客観的に評価したところ、Intact 群においては脛骨の明らかな内旋および外旋は認められなかった（図 3-8）。一方で、CrMB 群においては、自然立位の時点では Intact 群と差が認められなかったものの、膝関節の角度が 120° 辺りから急激に内旋していく様子が認められた（図 3-8）。CdLB 群においても、膝関節を屈曲するにつれて脛骨が内旋する傾向が認められたが、その程

度は CrMB 群よりも小さかった (図 3-8)。CrCL 群では、自然立位の時点で既に Intact 群より脛骨が内旋しており、さらに屈曲するにしたがって脛骨が内旋していく傾向が認められた (図 3-8)。CrCL+CaCL 群においては、その程度がさらに大きくなった。これらの結果をまとめると、脛骨の内旋の程度は、CrCL+CaCL 群、CrCL 群、CrMB 群、CdLB 群の順で大きい傾向があった (図 3-8)。

3.3.3. 膝関節可動時における脛骨の内反および外反

膝関節可動時における、脛骨の内反および外反の程度を評価したところ、Intact 群、CrMB 群、CdLB 群、CrCL 群、CrCL+CaCL 群のいずれの群においても、脛骨の明らかな内反および外反は認められなかった (図 3-9)。

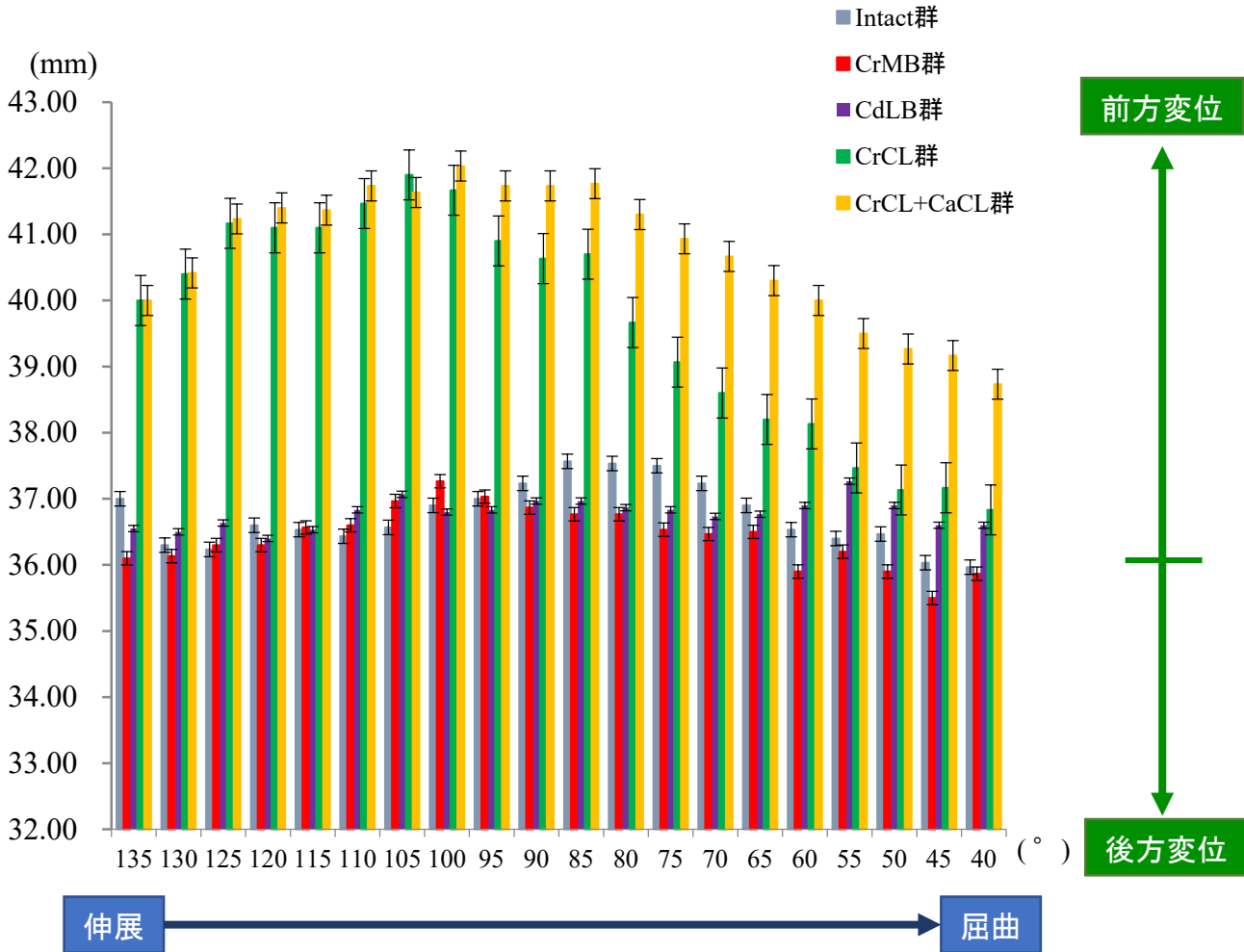


図 3-7 膝関節可動時における脛骨の前後方向への変位の程度

Intact群、CrMB群、CdLB群においては、いずれの膝関節の角度においても、大腿骨顆間窩の最尾側点と脛骨粗面の距離が変わらず、脛骨の明らかな変位は認められなかった。一方で、CrCL群とCrCL+CaCL群においては、いずれの膝関節の角度においても、明らかな脛骨の前方への変位が認められた。その程度は、CrCL+CaCL群において最も大きい傾向が認められた。

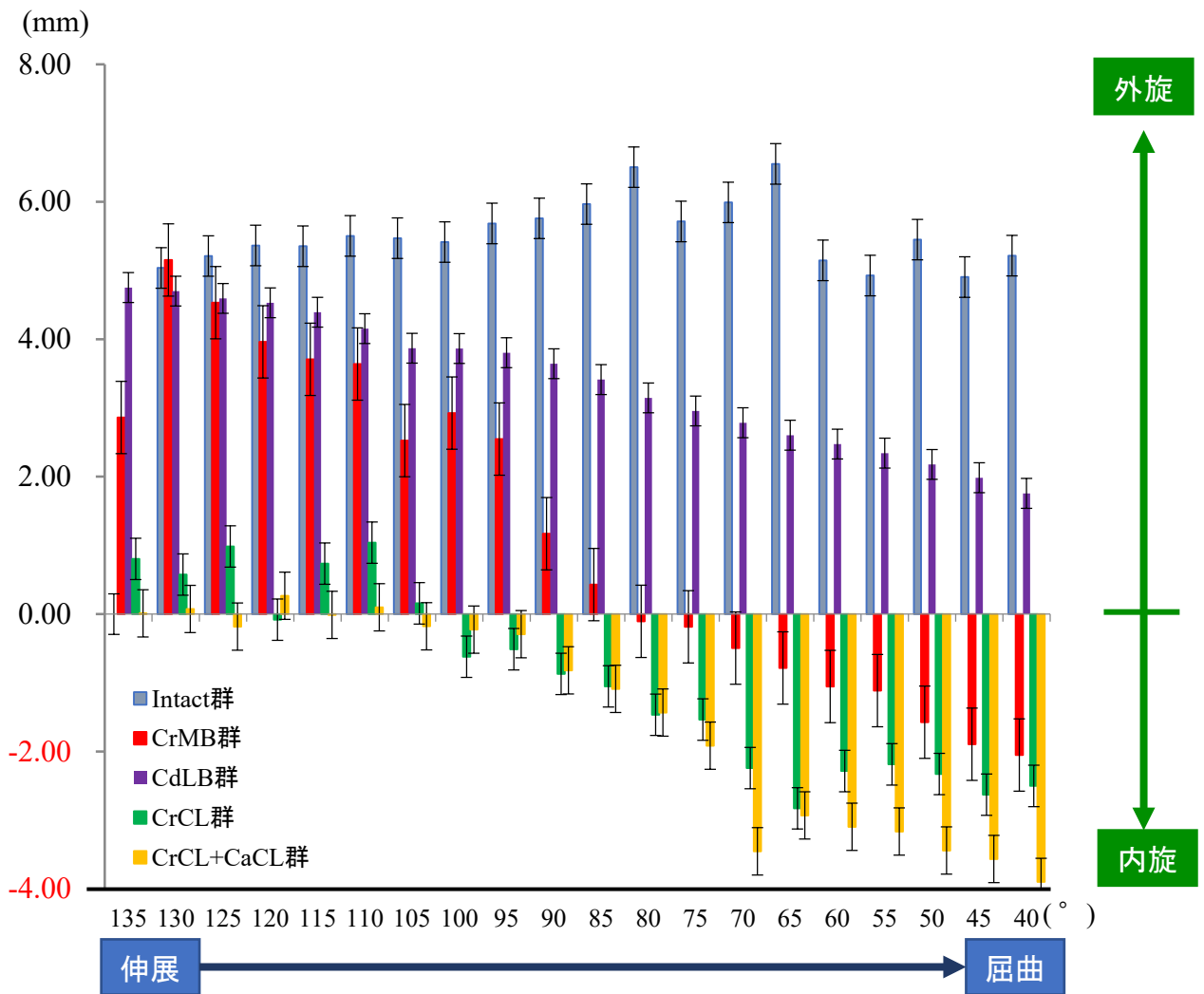


図 3-8 膝関節可動時における脛骨の回旋の程度

Intact群を除く全ての群において、膝関節可動時に脛骨の内旋が認められた。その内旋の程度は、CrCL+CaCL群、CrCL群、CrMB群、CdLB群の順で大きい傾向があった。

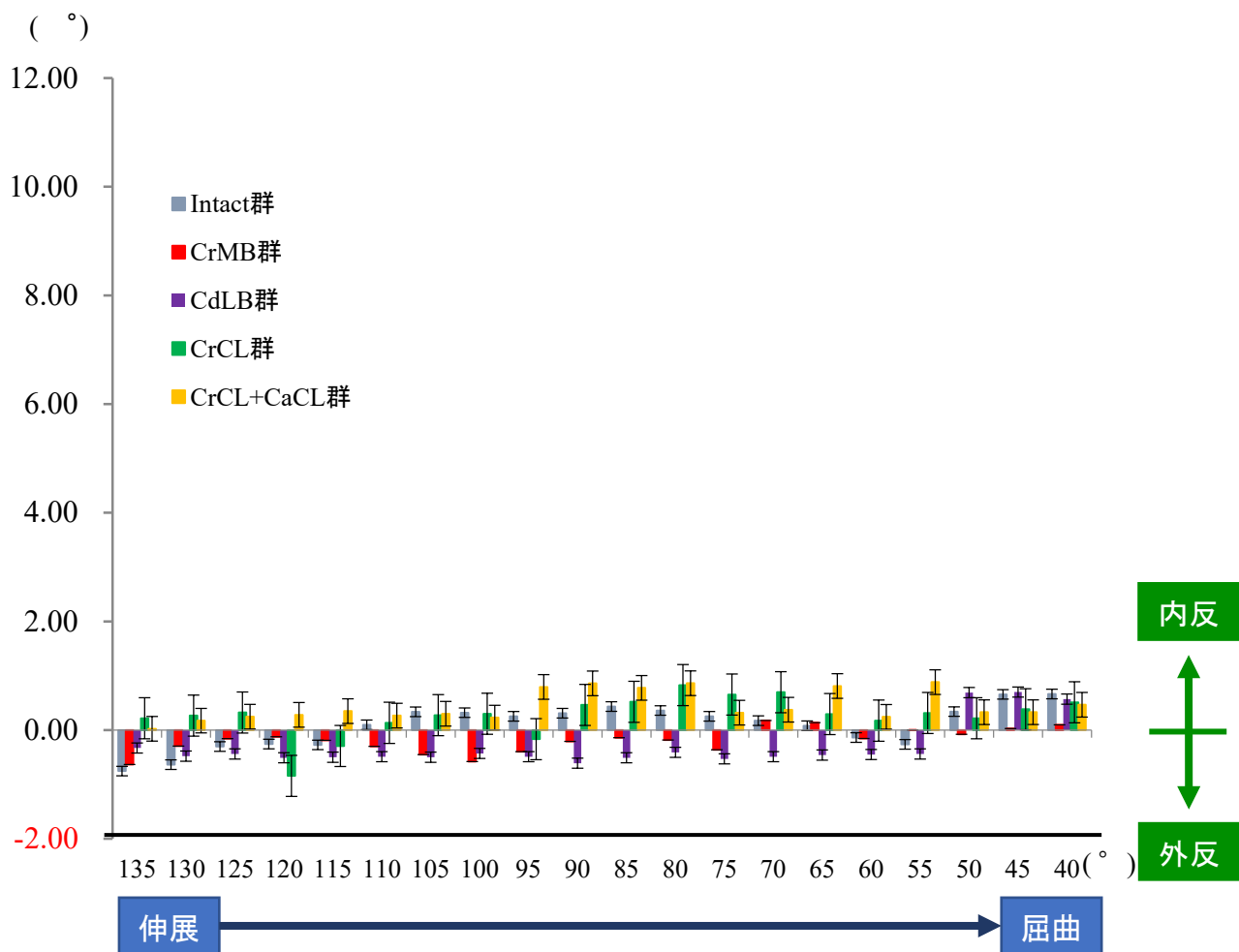


図 3-9 膝関節可動時における脛骨の内反および外反の程度
 Intact群、CrMB群、CdLB群、CrCL群、CrCL+CaCL群のいずれの群
 においても、脛骨の明らかな内反および外反は認められなかった。

3.4. 考察

本検討は、4D-CT という新規手法を用いて、犬の十字靭帯断裂モデルの関節運動を検討した初めての報告であり、十字靭帯断裂時の膝関節の動きを三次元かつ動的に評価することができた。

4D-CTは、三次元の画像に時間軸を加えることで、骨格や臓器の動きを立体的に描出できる技術である。医学領域においても、4D-CTが導入されたのは最近のことであり、心臓や肺の機能評価、尿路閉塞の診断、血流や血行動態の把握を目的として、既に臨床応用されている (Ferrari *et al.*, 2019; Kwong *et al.*, 2015)。整形外科領域では、主に関節運動の解析に利用されており、様々な関節の動きを理解するのに役立っている (石井および名倉, 2019; 片岡, 2014)。筆者の知る限り、現在までに4D-CTを用いて犬の関節運動を評価した報告は存在しない。本検討において、犬の膝関節運動の解析に4D-CTを使用したところ、従来の手法より高分解能の動的画像が得られ、関節の動きを詳細にかつ客観的に評価することができた。したがって、獣医学領域においても当分野の研究に4D-CTが有用であり、関節疾患の病態の解析や新規治療法の開発に役立つことが示唆された。

犬において、CrCL が完全に断裂すると、膝関節に不安定が生じ、脛骨の前方変位が生じることが知られている (Johnson *et al.*, 2002)。実際に、歩行時の膝関節運動を X 線透視装置にて動的に解析した過去の

研究において、CrCL の完全断裂例では負重時に脛骨の前方変位が生じることが証明されている (Tashman *et al.*, 2004)。本検討においても、CrCL の完全断裂モデルである CrCL 群および CrCL+CaCL 群において、脛骨の明らかな前方変位が認められ、過去の報告を完全に再現することができた。

犬の CrCL の部分断裂例においては、膝関節を伸展させた時には脛骨の前方変位は生じないが、屈曲させた際には脛骨の前方変位が生じると理論上説明されてきた (Arnoczky and Marshall, 1977)。しかし、CrCL の部分断裂モデルである CrMB 群と CdLB 群においては、いずれの関節角度でも脛骨の前方変位は認められなかった。本検討で作製した部分断裂モデルは、CrCL の片側の帯が健全であったため、結果に影響を与えた可能性がある。一方で、CrCL の部分断裂の実症例においては、靭帯線維の大部分が断裂しているか、残存した靭帯線維の張力が失われている場合を除き、触診で脛骨の前方変位を検出することは難しいという報告が複数ある (Heffron and Campbell, 1978; Fazio *et al.*, 2018)。本検討の結果は、そのような報告を一部支持するものであり、CrCL の片側の帯が健全な場合には、膝関節の前方への不安定は生じにくいということを客観的に示すことができた。

屍体犬または生体犬を用いた研究において、CrCL が完全に断裂すると、脛骨が正常よりも内旋することが明らかになっている (Tachman *et*

al., 2004; Warzee *et al.*, 2001; Arnoczky and Marshall, 1977)。本検討においても、CrCL の完全断裂モデルである CrCL 群と CrCL+CaCL 群において、膝関節可動時に脛骨の明らかな内旋が認められた。過去に CrCL の部分断裂例で、脛骨の内旋に言及した報告は存在しない。本検討では、CrCL の部分断裂モデルである CrMB 群と CdLB 群においても、完全断裂モデルほどではないものの、膝関節可動時に脛骨が内旋することを客観的に示すことができた。前述したように、CrCL の片側の帯が健全な場合には、脛骨の前方への変位は生じない。しかし、本検討の結果から、CrCL の片側の帯が健全であっても、脛骨の内旋は生じることが初めて実証された。また、本検討では、CrMB 群の方が CdLB 群より脛骨の内旋の程度が大きかった。したがって、CrMB の方が脛骨の内旋の制御により貢献していることも同時に明らかにすることができた。

本検討では、いずれの断裂モデルにおいても、膝関節可動時に脛骨の内反および外反は認められなかった。したがって、犬の十字靭帯は、膝関節の内反や外反の安定性には寄与していないことが示唆された。

さらに、本検討においては、両十字靭帯の完全断裂モデルである CrCL+CaCL 群と、CrCL のみの完全断裂モデルである CrCL 群を比較することで、CaCL の機能の一端も確認することができた。犬の CaCL の主な機能は、脛骨の後方変位および過剰な回旋の制御とされているが

(Arnoczky and Marshall, 1977)、未だ関節可動時における検討は行われていない。本検討の結果から、CrCLの断裂に加え、CaCLが断裂すると、膝関節が屈曲するにしたがってより膝関節の不安定が大きくなることが明らかになった。しかし、CaCL断裂時の膝関節への影響をより正確に把握するためには、CaCLの部分断裂モデルの作製や、膝関節への負荷条件を加えた追従研究が必要である。

本検討には、研究手法にいくつかの限界がある。本検討では、健常ビーグル犬のみを使用しており、調査した肢は全て屍体であった。そのため、犬の品種間や体格での差異および、生体との違いも考慮する必要がある。また、非荷重の状態では動的に膝関節を可動させたため、荷重下での生理的な関節の動きとは異なる可能性がある。

本章では、犬の関節運動を検証する新たな手法として、4D-CTが有用であることが示唆された。また、膝関節の十字靭帯を構成するCrCLまたはCaCLが断裂した際の関節運動への影響を客観的に把握することができた。本章で得られた結果は、CrCLとCaCLの機能や断裂時の病態が把握できただけでなく、膝関節内で解剖学的再建術を実施するための基礎的なデータとして大いに役立つものと思われる。

総括

日常の診療において、犬の前十字靭帯（CrCL）断裂の症例に遭遇する機会は稀ではなく、膝関節の安定性を確保する目的で外科手術が選択されることは少なくない。犬では、膝関節を安定化させるための様々な手法が行われているが、ヒトと異なり、膝関節内で CrCL を解剖学的に正しい位置に再建して本来の靭帯機能を忠実に再現する手技は確立していない。そのような背景から、本研究では、犬において CrCL の解剖学的再建術を確立するための基礎情報を集積する目的で、十字靭帯の機能解剖と靭帯断裂時の関節運動の解析を行った。

第一章では、犬の CrCL を構成する前内側帯（CrMB）と後外側帯（CdLB）の機能解剖を調査する目的で、各帯の付着部領域の形態の観察、各帯の付着部の面積と位置の客観的な測定、各帯内の線維束の走行と膝関節可動時における配列の変化に関する主観的な評価、膝関節可動時における靭帯線維の張力の客観的な測定を行った。その結果、犬の CrCL の付着部領域の解剖は、fan-like extension fiber や resident's ridge が認められないなど、ヒトの付着部領域の形態とは大きく異なっていた。CrMB の付着部は、大腿骨側においては CdLB の付着部の尾近位側に位置し、脛骨側においては CdLB の付着部の頭側に位置していた。また、大腿骨側と脛骨側における CrMB の付着部面積は、ともに CdLB よりも大きい傾向が認められた。次いで、膝関節可動時に、CrMB と CdLB の各線維束が複雑に捻転していく様子を明らかにする

ことができた。両帯内の各線維束の張力は、膝関節の角度によって有意に変化し、伸展時には両帯が緊張し、屈曲時には CrMB のみが緊張することを客観的に再現することができた。さらに、CrMB では、中心部の線維束が張力の維持に関与していることも明らかにすることができた。第一章で得られた結果は、犬における CrCL の生体力学の理解に貢献するばかりでなく、膝関節内での CrCL の解剖学的再建術を実施するための基礎的なデータとして大いに貢献できるものであった。

第二章では、CrCL断裂時に残存する後十字靭帯 (CaCL) の機能解剖を詳細に把握する目的で、前外側帯 (CrLB) と後内側帯 (CdMB) の付着部領域の形態の観察、各帯の付着部の面積と位置の客観的な測定、各帯内の線維束の走行と膝関節可動時における配列の変化に関する主観的な評価、膝関節可動時における靭帯線維の張力の客観的な測定を行った。その結果、犬のCaCLの付着部領域の解剖は、**medial bifurcate ridge**に相当する骨隆起が認められないなど、ヒトと比べて明らかに異なっていた。犬のCdMBは、ヒトと同様に、大腿骨内側顆の内側面に付着していたが、CrLBは大腿骨顆間窩に付着していた。また、脛骨側においては、CrLBの方がCdMBよりも頭内側に付着していた。大腿骨側と脛骨側におけるCdMBの付着部面積は、ともにCrLBよりも大きい傾向が認められた。CaCLの両帯内の各線維束も、CrCLと同様に、膝関節可動時に複雑に捻転していく様子が観察された。さらに、関節可動に伴う

各線維束の張力の強弱も確認することができ、CdMBがCaCLの張力に貢献している可能性が示された。第二章では、CrCL断裂時に残存するCaCLの機能解剖および生体力学が把握できただけでなく、CrCLとの相点と相違点を知ることができた。これらの結果は、CrCLの解剖学的再建術を実施する際のCaCLの機能や、再建CrCLとの相互関係を理解する上で大いに参考となるものであった。

第三章では、CrCLの部分断裂および完全断裂、CrCLとCaCLの両靭帯断裂時の膝関節運動への影響を評価する目的で、それぞれの靭帯断裂モデルを作製し、4D-CTにて三次元でかつ動的に膝関節運動を解析した。4D-CTの撮影には、320列 Area Detector CTという世界最新鋭の機器を使用し、膝関節を可動させながらCTの撮影を行った。次いで、各モデルにおける4D-CT画像を解析することで、膝関節可動時の脛骨の前後方向への変位、脛骨の回旋、脛骨の内反および外反の程度を客観的に評価した。その結果、CrCLの完全断裂モデルでは、明らかな前方変位に加え、脛骨の内旋も生じていた。一方で、CrCLの部分断裂モデルにおいては、膝関節可動時に脛骨の前方変位は認められなかったものの、脛骨の内旋は生じていることが示された。また、CrCLの完全断裂モデルと、CrCLとCaCLの両靭帯断裂モデルを比較することで、CaCLの機能の一端も確認することができた。第三章では、4D-CTという新規手法を用いることにより、十字靭帯の部分または完全断裂

が生じたことによる、膝関節運動への影響を把握することができた。

第三章で得られた結果から、CrCL の様々な型の断裂に対して解剖学的再建術を実施する際に、どのような方向への関節の安定化が要求されるのかを明らかにすることができた。

本研究では、犬において、CrCL の解剖学的再建術を実施する際に必要な骨孔の作製位置を客観的に提示することができた。また、犬で CrCL の解剖学的再建術を行う場合には、2 重束または多重束のグラフトを用いたより正確な手技が要求されることも明らかになった。本研究の結果は、CrCL 断裂の病因や病態の解析に寄与するだけでなく、残存する CaCL についての詳細な情報も得ることができた。今後、本研究から得られたデータを元にして、正確な骨孔の作製手法とその再現性、グラフト素材の選択、張力を加えたグラフトの設置方法、グラフトの膝関節可動時における張力の変化への対応などの検討を重ねていくことにより、犬においても CrCL の解剖学的再建術が実用可能な手法となるであろう。

本研究で得られた成果は、犬の CrCL 断裂の新規治療法として解剖学的再建術を開発する際に大きく貢献することが期待される。

謝辞

本研究を完遂するに至るまで、終始温かい激励とご指導、ご鞭撻を賜りました日本大学大学院獣医学研究科獣医学専攻獣医放射線学研究室の中山智宏教授に心より感謝申し上げます。また、本論文の厳密な審査を賜りました日本大学大学院獣医学研究科獣医学専攻獣医外科学研究室の浅野和之教授、同獣医解剖学研究室の五味浩司教授、同獣医外科学研究室の枝村一弥准教授に謹んで御礼申し上げます。

本研究を行うにあたり、多岐に亘る実験の技術指導並びにご助言を賜りましたコーネル大学獣医学部林慶先生、日本大学大学院獣医学研究科獣医学専攻獣医外科学研究室大学院生の山崎敦史先生ならびに靱裕磨先生、日本大学動物病院支援獣医師の石川智恵子先生、日本大学動物病院の研修医の先生方に厚く御礼申し上げます。さらには、獣医外科学研究室の学部生諸君に感謝致します。

最後に私の病院であるマーレ動物クリニックの獣医師、獣医看護師の皆さん、コンピューターエンジニアの大石裕巳さん、私の家族の妻、娘、息子に深く感謝致します。

参考文献

Amis, A.A., Bull, A.M., Gupte, C.M., Hijazi, I., Race, A., Robinson, J.R. (2003) Biomechanics of the PCL and related structures: Posterolateral, posteromedial and meniscofemoral ligaments. *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.*, 11(5):271-281.

Andrada, E., Reinhardt, L., Lucas, K., Fischer, M.S. (2017) Three-dimensional inverse dynamics of the forelimb of Beagles at a walk and trot. *Am. J. Vet. Res.*, 78(7):804-817.

Arnoczky, S.P., Tarvin, G.B., Marshall, J.L., Saltzman, B. (1979) The over the top procedure: A technique for anterior cruciate ligament substitution in the dog. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, 15:283.

Arnoczky, S.P., Marshall, J.L. (1977) The cruciate ligaments of the canine stifle: An anatomical and functional analysis. *Am. J. Vet. Res.*, 38(11):1807-1814.

Bernard, M., Hertel, P., Hornung, H., Cierpinski, T. (1997) Femoral insertion of the ACL. Radiographic quadrant method. *Am. J. Knee Surg.*, 10(1):14-21, discussion 21-2.

Biskup, J.J., Balogh, D.G., Scott, R.M., Conzemius, M.G. (2017) Long-term outcome of

an intra-articular allograft technique for treatment of spontaneous cranial cruciate ligament rupture in the dog. *Vet. Surg.*, 46(5):691-699.

Biskup, J.J., Balogh, D.G., Haynes, K.H., Freeman, A.L., Conzemius, M.G. (2015) Mechanical strength of four allograft fixation techniques for ruptured cranial cruciate ligament repair in dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 76(5):411-419.

Bolia, A., Winkels, P., Böttcher, P. (2015) Radiographic location of the femoral footprint of the cranial cruciate ligament in dogs. *Tierarztl. PraxAusg. K. Klientiere. Heimtiere.*, 43(1):23-30.

Buote, N., Fusco, J., Radasch, R. (2009) Age, tibial plateau angle, sex, and weight as risk factors for contralateral rupture of the cranial cruciate ligament in Labradors. *Vet. Surg.*, 38(4):481-489.

Comerford, E.J., Tarlton, J.F., Innes, J.F., Johnson, K.A., Amis, A.A., Bailey, A.J. (2005) Metabolism and composition of the canine anterior cruciate ligament relate to differences in knee joint mechanics and predisposition to ligament rupture. *J. Orthop. Res.*, 23(1):61-66.

Cook, J.L., Smith, P.A., Stannard, J.P., Pfeiffer, F.M., Kuroki, K., Bozynski, C.C., Cook, C.R. (2015) A canine hybrid double-bundle model for study of arthroscopic ACL reconstruction. *J. Orthop. Res.*, 33(8):1171-1179.

DeAngelis, M.P., Betts, C.W. (1973) Posterior cruciate ligament rupture. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, 9:447.

DeCamp, C.E., Johnston, S.A., Dejardin, L.M., Schaefer, S.L. The stifle joint, p.597-669, In: Brinker, Piermattei, And Flo's. (2016) Handbook of Small Animal Orthopedics and Fracture Repair 5th ed. St. Louis: Elsevier, U.S.A.

Edwards, A., Bull, A.M., Amis, A.A. (2008) The attachments of the anteromedial and posterolateral fibre bundles of the anterior cruciate ligament. Part 2: Femoral attachment. *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.*, 16(1):29-36.

Egger, E.L. Pelvic limb, p.662-735, In: Bojrab, M.J. ed. (1990) Current Techniques in Small Animal Surgery 3rd ed. Philadelphia: Ler & Febiger, U.S.A.

El-Sherief, F.A.H., Aldahshan, W.A., Wahd, Y.E., Abdelaziz, A.M., Soliman, H.A.G., Hassan, T.G., Elbehairy, H.F., Awadallah, A.H. (2018) Double-bundle anterior cruciate

ligament reconstruction is better than single-bundle reconstruction in terms of objective assessment but not in terms of subjective score. *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.*, 26(8):2395-2400.

Fazio, C.G., Muir, P., Schaefer, S.L., Waller III, K.R. (2018) Accuracy of 3 Tesla magnetic resonance imaging using detection of fiber loss and a visual analog scale for diagnosing partial and complete cranial cruciate ligament ruptures in dogs. *Vet. Radiol. Ultrasound*, 59(1):64-78.

Ferrari, F., Cirillo, L., Calbucci, F., Bartiromo, F., Ambrosetto, P., Fioravanti, A., Leonardi, M. (2019) Wall motion at 4D-CT angiography and surgical correlation in unruptured intracranial aneurysms: A pilot study. *J. Neurosurg. Sci.*, 63(5):501-508.

Fujii, M., Furumatsu, T., Xue, H., Miyazawa, S., Kodama, Y., Hino, T., Kamatsuki, Y., Ozaki, T. (2017) Tensile strength of the pullout repair technique for the medial meniscus posterior root tear: A porcine study. *Int. Orthop.*, 41(10):2113-2118.

Girgis, F.G., Marshall, J.L., Monajem, A. (1975) The cruciate ligaments of the knee joint. Anatomical functional and experimental analysis. *Clin. Orthop. Relat. Res.*, 106:216-231.

Guenoun, D., Vaccaro, J., Le, Corroller, T., Barral, P.A., Lagier, A., Pauly, V., Coquart, B., Coste, J., Champsaur, P. (2017) A dynamic study of the anterior cruciate ligament of the knee using an open MRI. *Surg. Radiol. Anat.*, 39(3):307-314.

Hara, K., Mochizuki, T., Sekiya, I., Yamaguchi, K., Akita, K., Muneta, T. (2009) Anatomy of normal human anterior cruciate ligament attachments evaluated by divided small bundles. *Am. J. Sports Med.*, 37(12):2386-2391.

Harner, C.D., Xerogeanes, J.W., Livesay, G.A., Carlin, G.J., Smith, B.A., Kusayama, T., Kashiwaguchi, S., Woo, S.L. (1995) The human posterior cruciate ligament complex: An interdisciplinary study. Ligament morphology and biomechanical evaluation. *Am. J. Sports Med.*, 23(6):736-745.

Hayashi, K., Bhandal, J., Kim, S.Y., Walsh, N., Entwistle, R., Stover, S.M., Kapatkin, A.S. (2019) Comparative histomorphometric analysis of cellular phenotype in canine stifle ligaments and tendon. *Vet. Surg.*, 48(6):1013-1018.

Hayashi, K., Lansdoene, J.L., Dejardin, L. Cranial cruciate ligament and meniscal and meniscal injuries in dogs, p.646-654, In: Bojrab, M.J. ed. (2010) Mechanisms of disease

in small animal surgery, 3rd ed. Teton Newmedia, Jackson, U.S.A.

Hayashi, K., Frank, J.D., Dubinsky, C., Zhengling, H., Markel, M.D., Manley, P.A., Muir, P. (2003) Histologic changes in ruptured canine cranial ligament. *Vet. Surg.*, 32(3):269-277.

Heffron, L.E., Campbell, J.R. (1978) Morphology, histology and functional anatomy of the canine cranial cruciate ligament. *Vet. Rec.*, 102(13):280-283.

Ho-Eckart, L.K., Seki, M., Luizza, L.M., Kearney, M.T., Lopez, M.J. (2017) Joint stability after canine cranial cruciate ligament graft reconstruction varies among femoral fixation sites. *Vet. Surg.*, 46(2):213-225.

Iwahashi, T., Shino, K., Nakata, K., Otsubo, H., Suzuki, T., Amano, H., Nakamura, N. (2010) Direct anterior cruciate ligament insertion to the femur assessed by histology and 3-dimensional volume-rendered computed tomography. *Arthroscopy*, 26(9 Suppl), S13-S20.

Jaegger, G., Marcellin-Little, D.J., Levine, D. (2002) Reliability of goniometry in Labrador Retrievers. *Am. J. Vet. Res.*, 63(7):979-986.

Johnson, A.L., Hulse, D.A. Diseases of the Joints, p.1023-1157, In: Fossum, T.W. ed. (2002) Small Animal Surgery 2nd ed. St. Louis: Mosby, U.S.A.

Johnson, A.L., Olmstead, M.L. (1987) Caudal cruciate ligament rupture. A retrospective analysis of 14 dogs. *Vet. Surg.*, 16(3):202-206.

Järvelä, S., Kiekara, T., Suomalainen, P., Järvelä, T. (2017) Double-bundle versus single-bundle anterior cruciate ligament reconstruction: A prospective randomized study with 10-year results. *Am. J. Sports Med.*, 45(11):2578-2585.

Kawaguchi, Y., Kondo, E., Onodera, J., Kitamura, N., Sasaki, T., Yagi, T., Yasuda, K. (2013) Tunnel enlargement and coalition after anatomic double-bundle anterior cruciate ligament reconstruction with hamstring tendon autografts: A computed tomography study. *Orthop. J. Sports Med.*, 1(1): 2325967113486441.

Kowaleski, M.P., Boudrieau, R.J. Stifle joint, p.1071-1176, In: Johnston, S.A., Tobias, K.M. (2017) Veterinary Surgery: Small Animal. 2nd ed. St. Louis: Elsevier, U.S.A.

Krotscheck, U., Nelson, S.A., Todhunter, R.J., Stone, M., Zhang, Z. (2016) Long Term

Functional outcome of tibial tuberosity advancement vs. tibial plateau leveling osteotomy and extracapsular repair in a heterogeneous population of dogs. *Vet. Surg.*, 45(2):261-268.

Kwong, Y., Mel, A.O., Wheeler, G., Troupis, J.M. (2015) Four-dimensional computed tomography (4DCT): A review of the current status and applications. *J. Med. Imaging. Radiat. Oncol.*, 59(5):545-554.

Lopes, O.V., Ferretti, M., Shen, W., Ekdahl, M., Smolinski, P., Fu, F.H. (2008) Topography of the femoral attachment of the posterior cruciate ligament. *J. Bone. Joint. Surg. Am.*, 90(2):249-255.

Lorenz, S., Elser, F., Brucker, P.U., Obst, T., Imhoff, A.B. (2009) Radiological evaluation of the anterolateral and posteromedial bundle insertion sites of the posterior cruciate ligament. *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.*, 17(6):683-690.

Mochizuki, T., Fujishiro, H., Nimura, A., Mahakkanukrauh, P., Yasuda, K., Muneta, T., Akita, K. (2014) Anatomic and histologic analysis of the mid-substance and fan-like extension fibres of the anterior cruciate ligament during knee motion, with special reference to the femoral attachment. *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.*,

22(2):336-344.

Mochizuki, T., Muneta, T., Nagase, T., Shirasawa, S., Akita, K.I., Sekiya, I. (2006) Cadaveric knee observation study for describing anatomic femoral tunnel placement for two-bundle anterior cruciate ligament reconstruction. *Arthroscopy*, 22(4):356-361.

Muhit, A.A., Pickering, M.R., Scarvell, J.M., Ward, T., Smith, P.N. (2013) Image-assisted non-invasive and dynamic biomechanical analysis of human joints. *Phys. Med. Biol.*, 58(13):4679-4702.

Nowakowski, A.M., Kamphausen, M., Pagenstert, G., Valderrabano, V., Müller-Gerbl, M. (2014) Influence of tibial slope on extension and flexion gaps in total knee arthroplasty: Increasing the tibial slope affects both gaps. *Int. Orthop.*, 38(10):2071-2077.

Paatsama, S. (1952) Ligament injuries of the canine stifle joint. A clinical and experimental study. Ph.D. Thesis: Helsinki, Finland.

Paley, D. (2003) Principles of Deformity Correction. Berlin: Sptinger-Verlag, Germany.

Piermattei, D.L., Flo, G.L., DeCamp, C.E. The stifle joint, p.562-632, In: Piermattei, D.L., Flo, G.L., Decamp, C.E. ed. (2006) Handbook of Small Animal Orthopedics and Fracture Repair 4th ed. St. Louis: Saunders, U.S.A.

Proffen, B.L., McElfresh, M., Fleming, B.C., Murray, M.M. (2012) A comparative anatomical study of the human knee and six animal species. *Knee*, 19(4):493-499.

Race, A., Amis, A.A. (1994) The mechanical properties of the two bundles of the human posterior cruciate ligament. *J. Biomech.*, 27(1):13-24.

Reichert, E.E., Kunkel, K.A., Suber, J.T., Basinger, R.R., Gerard, P.D. (2013) Radiographic localization and isometry of the origin and insertion of the canine cranial cruciate ligament. *Vet. Surg.*, 42(7):860-866.

Rey, J., Fischer, M.S., Böttcher, P. (2014) Sagittal joint instability in the cranial cruciate ligament insufficient canine stifle. Caudal slippage of the femur and not cranial tibial subluxation. *Tierarztl. Prax. Ausg. K. Kleintiere. Heimtiere.*, 42(3):151-156.

Sakane, M., Fox, R.J., Woo, S.L., Livesay, G.A., Li, G., Fu, F.H. (1997) In situ forces in

the anterior cruciate ligament and its bundles in response to anterior tibial loads. *J.*

Orthop. Res., 15(2):285-293.

Schindler, O.S. (2012) Surgery for anterior cruciate ligament deficiency: A historical perspective. *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.*, 20(1):5-47.

Schulz, K.S., Hayashi, K., Fossum, T.W. Disease of the joint, p.1134–1279, In: Fossum, T.W. ed. (2019) *Small Animal Surgery* 5th ed. Philadelphia: Elsevier, U.S.A.

Shino, K., Suzuki, T., Iwahashi, T., Mae, T., Nakamura, N., Nakata, K., Nakagawa, S. (2010) The resident's ridge as an arthroscopic landmark for anatomical femoral tunnel drilling in ACL reconstruction. *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.*, 18(9):1164-1168.

Singleton, W.B. (1957) The diagnosis and surgical treatment of some abnormal stifle conditions in the dog. *Vet. Rec.*, 69:1387-1394.

Snow, L.A., White, R., Gustafson, S., Xie, L., Hosgood, G., Monroe, W.T., Casey, J.P., Lopez, M.J. (2010) Ex vivo comparison of three surgical techniques to stabilize canine cranial cruciate ligament deficient stifles. *Vet. Surg.*, 39(2):195-207.

Stouffer, D.C., Butler, D.L., Kim, H. (1983) Tension-torsion characteristics of the canine anterior cruciate ligament–Part I: Theoretical framework. *J. Biomech. Eng.*, 105(2):154-159.

Suruga, M., Horaguchi, T., Iriuchishima, T., Yahagi, Y., Iwama, G., Tokuhashi, Y., Aizawa, S. (2017) Morphological size evaluation of the mid-substance insertion areas and the fan-like extension fibers in the femoral ACL footprint. *Arch. Orthop. Trauma. Surg.*, 137(8):1107-1113.

Tajima, G., Nozaki, M., Iriuchishima, T., Ingham, S.J., Shen, W., Smolinski, P., Fu, F.H. (2009) Morphology of the tibial insertion of the posterior cruciate ligament. *J. Bone Joint Surg. Am.*, 91(4):859-866.

Takahashi, M., Matsubara, T., Doi, M., Suzuki, D., Nagano, A. (2006) Anatomical study of the femoral and tibial insertions of the anterolateral and posteromedial bundles of human posterior cruciate ligament. *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.*, 14(11):1055-1059.

Tashman, S., Anderst, W., Kolowich, P., Havstad, S., Arnoczky, S. (2004) Kinematics of

the ACL-deficient canine knee during gait: Serial changes over two years. *J. Orthop. Res.*, 22(5):931-941.

Tashman, S., Anderst, W. (2003) In-vivo measurement of dynamic joint motion using high speed biplane radiography and CT: Application to canine ACL deficiency. *J. Biomech. Eng.*, 125(2):238-245.

Taylor-Brown, F.E., Meeson, R.L., Brodbelt, D.C., Church, D.B., McGreevy, P.D., Thomson, P.C., O'Neill, D.G. (2015) Epidemiology of cranial cruciate ligament disease diagnosis in dogs attending primary-care veterinary practices in England. *Vet. Surg.*, 44(6):777-783.

Tsukada, H., Ishibashi, Y., Tsuda, E., Fukuda, A., Toh, S. (2008) Anatomical analysis of the anterior cruciate ligament femoral and tibial footprints. *J. Orthop. Sci.*, 13(2):122-129.

Vasseur, P.B. Stifle joint, p.2090-2133, In: Slatter, D. ed. (2003) Text of Small Animal Surgery 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders, U.S.A.

Vasseur, P.B., Pool, R.R., Arnoczky, P., Lau, R.E. (1985) Correlative biomechanical and histologic study of the cranial cruciate ligament in dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 46(9):1842-1854.

Vasseur, P.B. (1984) Clinical results following nonoperative management for rupture of the cranial cruciate ligament in dogs. *Vet. Surg.*, 13(4):243-246.

Warzee, C.C., Dejardin, L.M., Arnoczky, S.P., Perry, R.L. (2001) Effect of tibial plateau leveling on cranial and caudal tibial thrusts in canine cranial cruciate-deficient stifles: An in vitro experimental study. *Vet. Surg.*, 30(3):278-286.

Yagi, M., Wong, E.K., Kanamori, A., Debski, R.E., Fu, F.H., Woo, S.L. (2002) Biomechanical analysis of an anatomic anterior cruciate ligament reconstruction. *Am. J. Sports Med.*, 30(5):660-666.

Yasuda, K., Kondo, E., Ichiyama, H., Yasuda, K., Kondo, E., Ichiyama, H., Kitamura, N., Tanabe, Y., Tohyama, H., Minami, A. (2004) Anatomic reconstruction of the anteromedial and posterolateral bundles of the anterior cruciate ligament using hamstring tendon grafts. *Arthroscopy*, 20(10):1015-1025.

石井和典, 名倉武雄. (2019) 4D-CT. 整形外科. 70(13):1384.

片岡寿雄. (2014) 関節内運動学. 東京: 南江堂.

久保慶太郎, 小池崇志, 上田貴之, 尾松素樹, 櫻井薫. (2017) 軟質裏装材を応用したオーバーデンチャーの維持力に影響を及ぼす機械的特性. 日本補綴歯科学会誌, 126:333.