

平成 30 年 6 月 13 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10384

研究課題名(和文) 腱板断裂モデルラットにおける筋変性に対するウルソル酸の予防効果

研究課題名(英文) The preventive effect of ursolic acid on the degeneration of rotator cuff muscle

研究代表者

高岸 憲二 (Takagishi, Kenji)

群馬大学・大学院医学系研究科・名誉教授

研究者番号：70154763

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：骨格筋萎縮・変性を抑制する効果が報告されているウルソル酸を腱板大断裂モデルラットに投与し、腱板断裂後の腱板構成筋の萎縮・変性を抑制しうるかを調査した。この結果、ウルソル酸投与による腱板構成筋の萎縮は抑制されなかった。次いで、腱板大断裂モデルラットにおける筋萎縮の自然経過を調査することを目的に腱板断裂手術後、1,2,4,8,16週で棘上筋、棘下筋の重量を計測しこれを採取した。この結果、棘上筋では術後16週で術後1週に対し有意な筋重量の低下を示すのに対し、棘下筋では術後4週の時点で術後1週に対し有意な筋重量の低下を示しており、腱板大断裂では棘下筋でより早期から筋萎縮が進行する可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：We administered ursolic acid, which is reported to have inhibitory effect on atrophy and degeneration of skeletal muscle, to large rotator cuff tear (RCT) rat model. However, we could not find any effect of ursolic acid on our rat model. Next, we examined a natural course of muscle atrophy in large RCT rat model. We sacrificed the rats at 1, 2, 4, 8, and 16 weeks after the surgery, and collected the supraspinatus (SSP) and infraspinatus (ISP) muscles and weighed it. The weight ratio of SSP muscle significantly reduced at 16 weeks after the surgery than at 1 week, and the weight ratio of ISP muscle significantly reduced at 4 weeks after the surgery than 1 week. These results suggested that the muscle atrophy in large RCT started earlier in ISP muscle than SSP muscle.

研究分野：肩関節

キーワード：肩関節 腱板断裂 骨格筋変性

1. 研究開始当初の背景

肩関節において肩甲下筋, 棘上筋, 棘下筋, 小円筋の4つからなる回旋筋腱板は運動時の肩関節の安定性に寄与する構造である。この構造の破綻である「腱板断裂」は安静時, 運動時, 夜間の肩関節痛や肩関節挙上時の筋力低下をもたらす, 日常生活において日常生活動作を著明に制限させる運動器疾患である。

有症状の腱板断裂において, 手術治療による腱板の修復ならびに腱板機能の再獲得は肩関節機能の回復に必要な因子である。腱板構成筋の変性(筋萎縮, 脂肪変性)は断裂後長期間が経過した症例で生じる骨格筋の退行性変化であり, 術後の再断裂や機能的予後にも影響を与える因子であることが広く知られているが, 同時に, 腱板の修復後もこの変性は回復しない事が報告されている。

一方, 筋萎縮の予防に関しては坐骨神経損傷モデルラットにおいて, トリテルペン化合物の一種であるウルソル酸を経口投与することで下肢骨格筋の萎縮・変性が抑制されたとする報告があり, 整形外科治療への応用が期待される場所である。

2. 研究の目的

本研究の目的は腱板大断裂モデルラットに対するウルソル酸の筋萎縮予防効果を調査することである。

3. 研究の方法

1)ウルソル酸投与実験

全身麻酔下に左肩の棘上筋・棘下筋腱を切断した腱板大断裂モデルラットを2群に分け, それぞれに0.14%のウルソル酸を含有した餌と通常の餌を術後8週から投与開始し, 術後16週で棘上筋, 棘下筋を採取し, 筋重量を測定した。また, 萎縮・変性が臨床的に問題となる棘下筋については筋肥大関連遺伝子として Akt1, Akt2, mTOR を, 脂肪変性関連遺伝子として PPAR γ , SREBP-1 を筋萎縮関連遺伝子として MuRF-1, FBX032 を, 繊維化関連遺伝子として CTGF, TGF β 2 を対象とし, real-time PCR 法をもちいて遺伝子発現の定量解析を行った。

2)腱板大断裂モデルラットにおける筋萎縮の自然経過

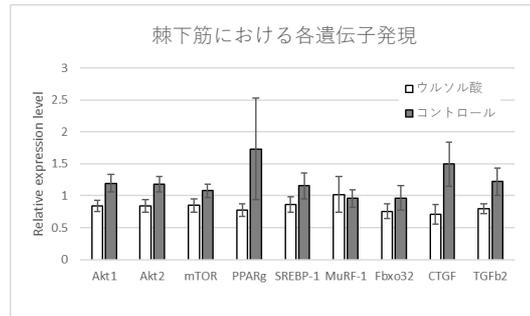
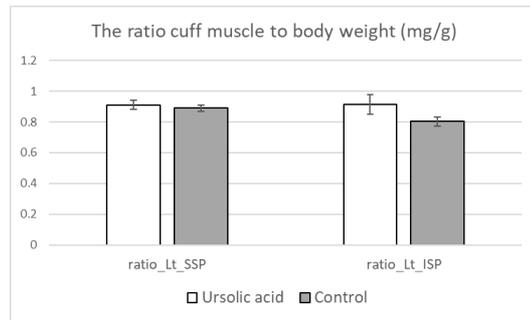
全身麻酔下に左肩の棘上筋・棘下筋腱を切断した腱板大断裂モデルラットを通常の餌で飼育し, 術後1, 2, 4, 8, 16週で両側の棘上筋, 棘下筋を採取し, 筋重量の測定を行った。また, 上記1)実験と同様に棘下筋における Akt1, Akt2, mTOR, PPAR γ , SREBP-1, MuRF-1, FBX032, CTGF, TGF β 2 の遺伝子発現を測定し, 断裂側と非断裂側で比較した。

4. 研究成果

1)ウルソル酸投与実験

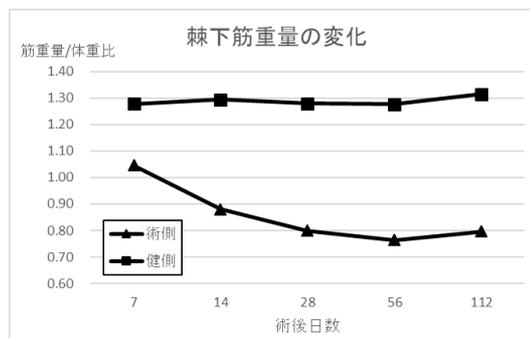
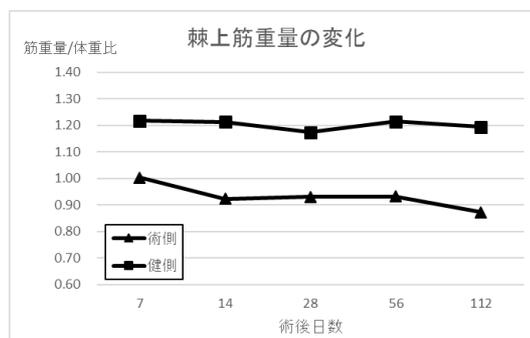
ウルソル酸投与群と非投与群で腱断裂後の棘上筋, 棘下筋の重量に有意差は認めなかつた

また Akt, mTOR, PPAR γ , SREBP-1, MuRF-1, FBX032, CTGF, TGF β 2 の遺伝子発現についても2群間での有意差は認めなかつた。

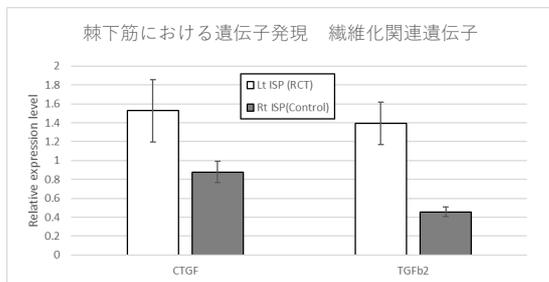
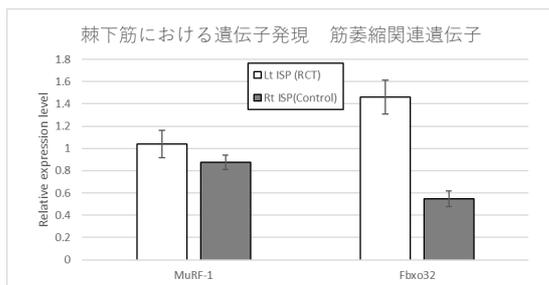
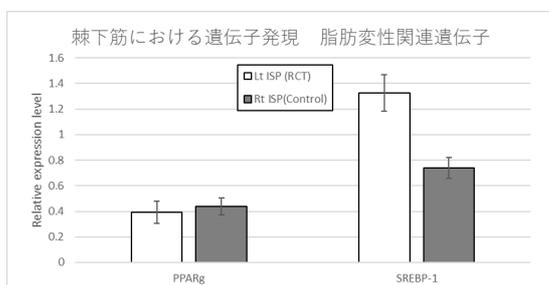
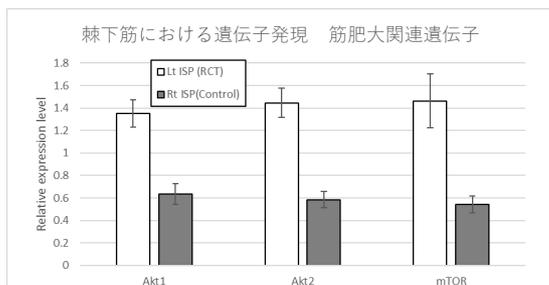


2)腱板大断裂モデルラットにおける筋萎縮の自然経過

腱板断裂手術後, 1, 2, 4, 8, 16週で両側の棘上筋, 棘下筋の重量を計測しこれを採取した。この結果, 棘上筋, 棘下筋共に術後1週の時点で非断裂側と比較して有意な筋重量の低下を認めた。一方, 棘上筋は術後16週で術後1週に対し有意な筋重量の低下を示すのに対し, 棘下筋では術後4週の時点で術後1週に対し有意な筋重量の低下を示しており, 腱板大断裂では棘下筋でより早期から筋萎縮が進行する可能性が示された。



また、術後 16 週における棘下筋での骨格筋変性関連遺伝子群の発現については筋肥大関連遺伝子である Akt1, Akt2, mTOR は断裂側で有意な発現の上昇を認めた。脂肪変性関連遺伝子である PPAR の発現は両側間で有意差は認めなかったが、SREBP-1 は断裂側で有意な発現の上昇を認めた。筋萎縮関連遺伝子である MuRF-1 の発現は両側間で有意差は認めなかったが、Fbxo32 は断裂側で有意な発現の上昇を認めた。繊維化関連遺伝子である CTGF の発現は両側間で有意差は認めなかったが、TGfb2 は断裂側で有意な発現の上昇を認めた。



過去の報告では腱板広範囲断裂モデルラットの棘上筋においては、腱断裂のみでは筋肥大関連遺伝子や脂肪変性関連遺伝子の発現に大きな変化はないことが、また、腱板断裂と肩甲上神経切離を行ったモデルではその棘上筋において筋肥大関連遺伝子や脂肪変性関連遺伝子の発現が有意に上昇することが報告されている。今回の実験で作成したモデルラットは神経損傷を加えない腱板断裂

のみのモデルであるが、その棘下筋において筋肥大関連遺伝子や脂肪変性関連遺伝子の発現は上昇していた。この背景として、腱板とその支配神経である肩甲上神経の解剖学的位置関係から、腱板断裂では筋肉の退縮に伴い肩甲上神経の牽引性障害の可能性が指摘されており、本研究のモデルラットの棘下筋では腱板断裂に伴う神経損傷のために、神経切離モデルと同様の遺伝子発現パターンを呈していた可能性が考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

(雑誌論文)(計4件)

Hamano N, Yamamoto A, Shitara H, Ichinose T, Shimoyama D, Sasaki T, Kobayashi T, Kakuta Y, Osawa T, Takagishi K. Does successful rotator cuff repair improve muscle atrophy and fatty infiltration of the rotator cuff? A retrospective magnetic resonance imaging study performed shortly after surgery as a reference. *J Shoulder Elbow Surg.* 2017 Jun;26(6):967-974. DOI 10.1016/j.jse.2016.10.016 (査読有り).

Takagishi K, Matsuura T, Masatomi T, Chosa E, Tajika T, Watanabe M, Iwama T, Otani T, Inagaki K, Ikegami H, Aoki M, Kato K, Okuwaki T, Sairyo K, Kameyama Y, Maeda A, Beppu M. Shoulder and elbow pain in elementary school baseball players: The results from a nation-wide survey in Japan. *J Orthop Sci.* 2017 Jul;22(4):682-686. DOI 10.1016/j.jos.2017.03.016 (査読有り).

Miyamoto R, Yamamoto A, Shitara H, Ichinose T, Shimoyama D, Sasaki T, Hamano N, Kobayashi T, Osawa T, Takagishi K. Clinical Outcome of Arthroscopic Remplissage as Augmentation During Arthroscopic Bankart Repair for Recurrent Anterior Shoulder Instability. *Open Orthop J.* 2017 Nov 10;11:1268-1276. DOI 10.2174/1874325001711011268 (査読有り).

Sasaki T, Shitara H, Yamamoto A, Hamano N, Ichinose T, Shimoyama D, Kobayashi T, Osawa T, Tsushima Y, Takagishi K, Chikuda H. What Is the Appropriate Reference for Evaluating the Recovery of Supraspinatus Muscle Atrophy After Arthroscopic Rotator Cuff Repair? The Occupation Ratio of the Supraspinatus May Change After Rotator Cuff Repair Without Volumetric Improvement. *Am J Sports Med.* 2018 Mar 1:1416-1423. DOI 10.1177/0363546518758313 (査読有り).

(学会発表)(計1件)

Tsuyoshi Ichinose, The Muscular Adaptation Of Intact Cuff Muscles In A Rat Model Of Large Rotator Cuff Tear. 2017

Annual Meeting of Orthopaedic Research
Society, San Diego, CA.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高岸 憲二 (TAKAGISHI, Kenji)
群馬大学・大学院医学系研究科・名誉教授
研究者番号：70154763

(2) 研究分担者

一ノ瀬 剛 (ICHINOSE, Tsuyoshi)
群馬大学・医学部附属病院・医員
研究者番号：70742550

(3) 連携研究者

鯉淵 典之 (KOIBUCHI, Noriyuki)
群馬大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：80234681