

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 28 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09591

研究課題名（和文）レチノイド代謝に着目した五十肩の病態解明と新規治療法の開発

研究課題名（英文）Elucidation of the pathophysiology of frozen shoulder and development of new treatment methods focusing on retinoid metabolism

研究代表者

千本 英一（Eiichi, Chimoto）

東北大学・医学系研究科・大学院非常勤講師

研究者番号：30810593

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：五十肩は激しい疼痛と関節拘縮を呈し、患者の生活の質を大きく低下させる。五十肩の病態は関節包の炎症・線維化と考えられているが、その病態は未だ解明されておらず根本的な治療法もない。研究代表者らのグループでは五十肩患者組織の網羅的なタンパク解析から軟骨化生やビタミンA代謝の低下を新たな病態として提唱してきた。本研究ではラット膝関節不動化モデルを使用し、低ビタミンAの関節拘縮への影響を検討した。低ビタミンAラットの関節包では線維化、軟骨化生、血管新生に関わる因子が増加し、関節包の硬化がみられた。ビタミンA欠乏は関節包に拘縮に関わる変化を生じる可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

五十肩の病態は未だ解明されておらず、根本的な治療法もない。本研究ではビタミンA代謝に着目し、低ビタミンAラットモデルを作成し関節拘縮の病態解析を行った。本研究の結果からビタミンAの低下が関節包に線維化、軟骨化生、血管新生および関節包の硬化を生じ、関節拘縮に関与する可能性が示された。ビタミンAと関節拘縮との関連が明らかとなれば新たな治療薬の開発につながるほか、食生活の改善など身近な対応策によって五十肩を予防できる可能性がある。病気を治す従来の治療から予防治療へのシフトが可能となり、医療費の抑制の観点からも社会的意義がある。

研究成果の概要（英文）：The frozen shoulder causes severe pain and joint contracture, and greatly reduces the quality of life of patients. The pathophysiology of frozen shoulder is thought to be inflammation and fibrosis of the joint capsule, but the pathogenesis is still unknown and there is no fundamental treatment. Based on comprehensive protein analysis of frozen shoulder tissues, the principal investigator's group has proposed the involvement of chondrogenesis and decreased vitamin A metabolism as new pathological conditions. In this study, the effects of hypovitaminosis A on joint contracture were examined using a rat knee immobilization model. Factors involved in fibrosis, chondrogenesis, and angiogenesis were increased in the joint capsule of hypovitamin A rats, and joint capsule stiffness was observed. Vitamin A deficiency may produce contracture-related changes in the joint capsule.

研究分野：整形外科

キーワード：関節拘縮 五十肩 関節包 ビタミンA 脂質 線維化 軟骨化生 血管新生

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

激的な疼痛と関節拘縮(関節可動域制限)を主訴とする「五十肩」は5%の有病率とされ、本邦では少なくとも600万人が罹患しているものと推定される。「五十肩は自然に治る」という一般認識が浸透し、適切な治療が必要にも関わらず医療機関を受診していない可能性が高く、潜在的な患者は相当数存在するものと考えられる。五十肩の病態は関節包の炎症・線維化と考えられているがその病態は未だ解明されておらず、根本的な治療法も無い。研究代表者らのグループでは網羅的な遺伝子解析から軟骨化生(プロテオグリカンの増加)を、網羅的なタンパク解析からグルタチオン(抗酸化)脂質、レチノイド(ビタミンA、脂溶性)代謝の低下を報告し、新たな病態として提唱してきた。軟骨化生により弾性線維の合成が阻害され、関節包が硬化するものと考えられているが、その軟骨化生を促進させる原因は不明である。ビタミンA誘導体であるトレチノインやレチノイン酸の核内受容体(PAR、RXR)に対するアゴニストは間葉系幹細胞の骨への分化過程で軟骨分化を抑制する重要な因子であり、既に異所性骨化症での治療(米国)に使用され、良好な成績を得ている。五十肩では脂質代謝の低下によって脂溶性のビタミンAが減少し、その結果軟骨化生が促進されている可能性が高い。本研究ではビタミンAの代謝経路に着目し五十肩の病態解明を試みる。ビタミンA濃度と病態との関連が明らかとなれば新たな治療薬の開発につながるほか、食生活の改善(青果物、魚類、レバーの摂取)など身近な対応策によって五十肩を予防できる可能性もあり、病気を治す従来の治療から予防治療へのシフトが可能となる。

2. 研究の目的

本研究の目的はラット膝関節不動化モデルを使用し、低ビタミンAの関節拘縮への影響について基礎的データの収集を行うことを念頭に置いた。

3. 研究の方法

(1) 低ビタミンAラットの作成

4週齢のSDラットを使用した。ビタミンA以外の栄養素を統一するため低ビタミンA群(低ビタミンA飼料(AIN-93Gベース)とコントロール群(低ビタミンA飼料+ビタミンA)とし、12週齢まで飼育し血中ビタミンA濃度を測定した。

(2) 膝関節拘縮ラットの作成

膝関節不動化モデルによる膝関節拘縮ラットを作製した。12週齢の低ビタミンA群およびコントロール群の片側膝関節をプラスチックプレートとスクリューで150°屈曲位で固定(2, 4, 6週)し、以下の検討を行った。

関節可動域の計測

2, 4, 6週でラットの股関節を離断し、膝関節組織を温存したまま筋組織およびプラスチックプレートを抜去し膝関節の可動域を計測した。異なった重量の重錘(225g、450g、900g)を使用し伸展させた膝関節をレントゲン撮影し角度の計測を行った。

遺伝子発現(ビタミンA代謝、線維化、炎症、軟骨化生、血管新生)の計測

2, 4, 6週の固定後低ビタミンA群およびコントロール群の膝関節の関節包を採取し、mRNAの抽出を行い定量RT-PCRによる遺伝子解析を行った。

関節包の弾性評価

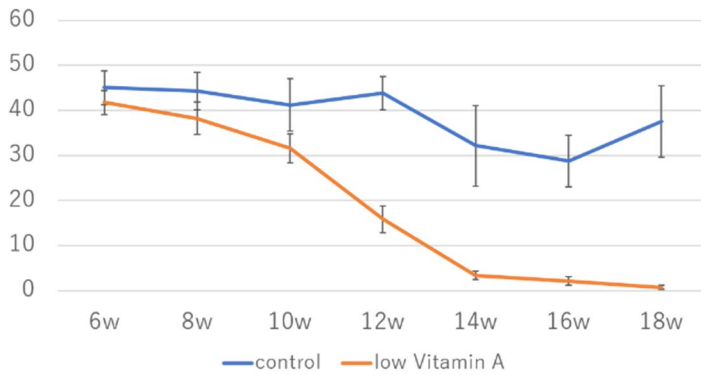
2, 4, 6週の固定後膝関節組織の切片を作成し、超音波顕微鏡を用いて組織の弾性の評価を行った。

4. 研究成果

(1) 低ビタミンAラットの作成

経時的に低ビタミンA群およびコントロール群の血中ビタミンA濃度を計測した。血中ビタミンAは4週齢で低ビタミン食を開始すると6~8週齢から徐々に低下し、12週齢で大きく減少し14週齢からは低値で横ばいとなった。低ビタミンA食の摂取により低ビタミンAラットモデルを作成できることが示された。

血中ビタミンA濃度

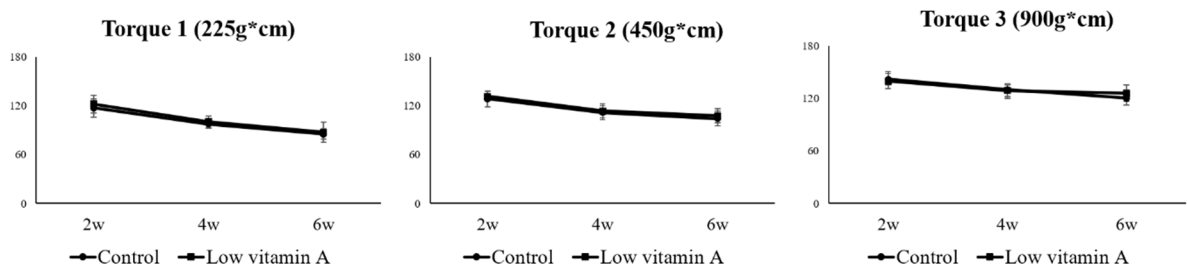


(2) 膝関節拘縮ラットの計測

2, 4, 6週の膝関節不動化を行い低ビタミン群とでコントロール群を比較した。関節可動域は両群間で有意差はみられなかった。遺伝子解析では線維化に関わる因子(Col3、TGF)、軟骨化生に関わる因子(Col10、SOX9、ADAMTS5)、血管新生に関わる因子(VEGF、eNOS)が低ビタミンA群で有意に増加していた。ビタミンA代謝および炎症に関わる因子は両群間で有意差がみられなかった。超音波顕微鏡を使用した音速の評価では低ビタミンA群で有意に関節包の硬化がみられた。低ビタミンAラットでは関節包において線維化、軟骨化生、血管新生に関わる因子の増加および硬化がみられたが、関節可動域に差はみられなかった。本研究によりビタミンA欠乏は関節包に拘縮に関わる変化を生じる可能性が示された。今回は関節可動域の差はみられなかったが、拘縮モデルを使用し比較的短い期間(6週までの固定)であったことも影響すると考えられた。今後ビタミンA欠乏による長期の影響を検討する必要がある。

関節可動域の計測

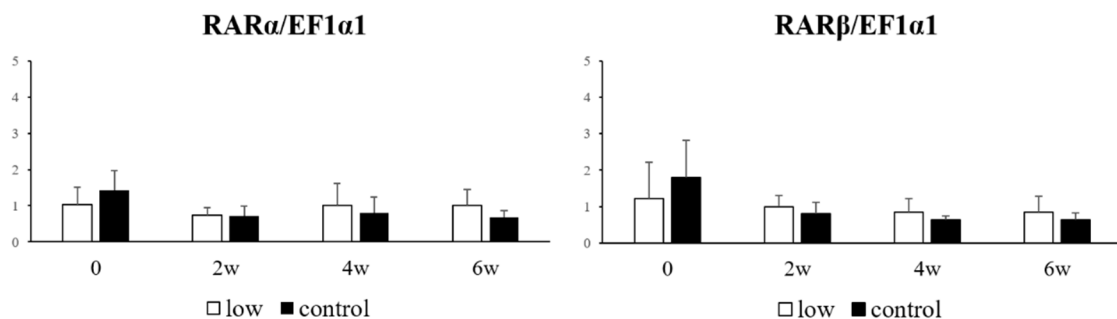
関節可動域はいずれの重量および固定期間においても両群間で有意差はみられなかった。



関節包(後方関節包)における遺伝子発現

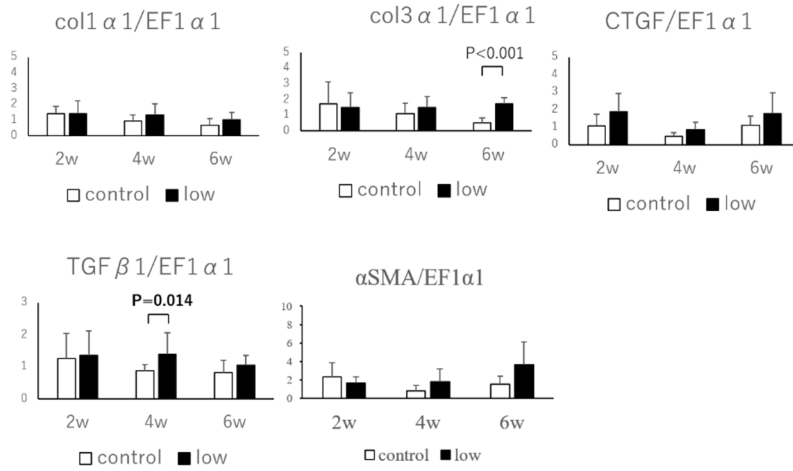
.ビタミンA代謝

ビタミンA代謝に関わる因子(RARα、RARβ)はいずれの固定期間においても両群間で有意差はみられなかった。



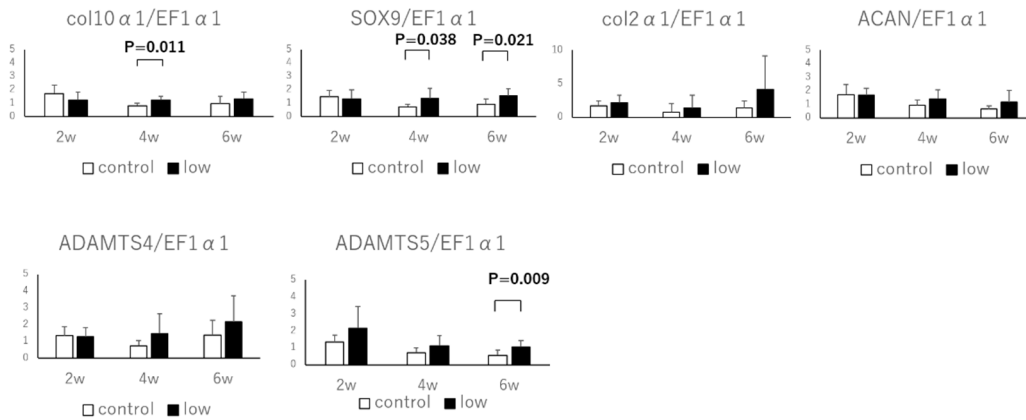
.線維化

線維化に関わる因子(Col、Col3、CTGF、TGF、SMA)において4週の固定でTGFが、6週の固定でCol3が低ビタミンA群で有意に増加していた。その他の因子はいずれの固定期間においても両群間で有意差はみられなかった。



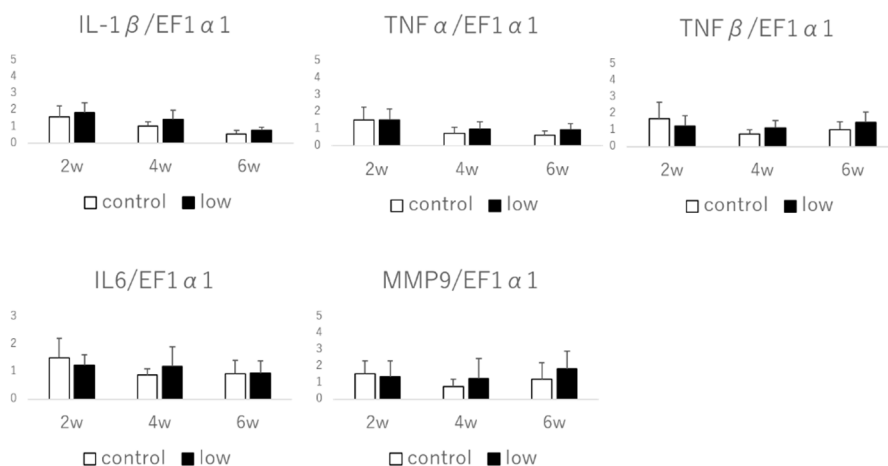
.軟骨化生

軟骨化生に関わる因子 (Co110、SOX9、Co12、ACAN、ADAMTS4、ADAMTS5) において 4 週の固定で Co110 および SOX9 が、6 週の固定で SOX9 および ADAMTS5 が低ビタミン A 群で有意に増加していた。その他の因子はいずれの固定期間においても両群間で有意差はみられなかった。



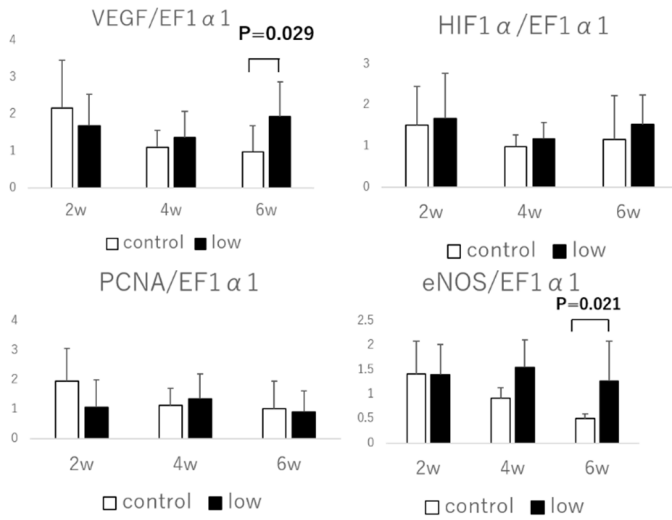
.炎症

炎症に関わる因子 (IL-1、TNF、TNF、IL6、MMP9) においていずれの固定期間でも両群間で有意差はみられなかった。



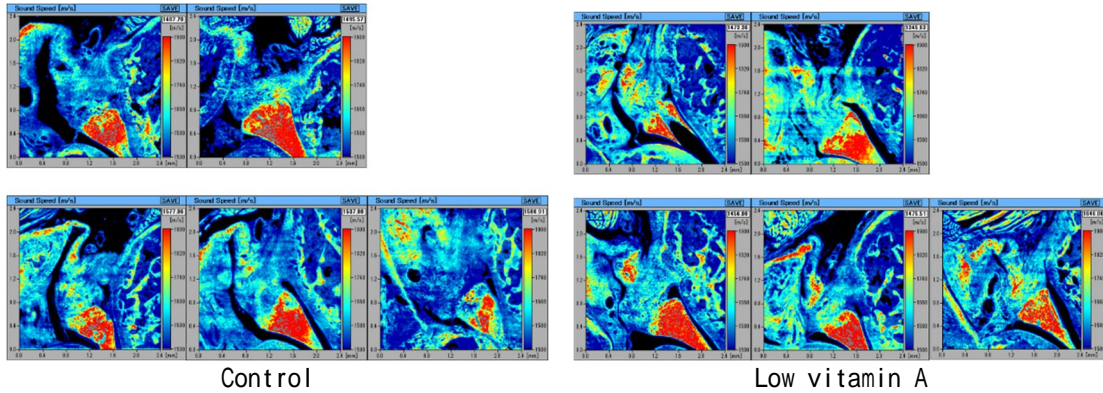
.血管新生

血管新生に関わる因子 (VEGF、HIF1、PCNA、eNOS) において 6 週の固定で VEGF および eNOS が低ビタミン群で有意に増加していた。その他の因子はいずれの固定期間においても両群間で有意差はみられなかった。

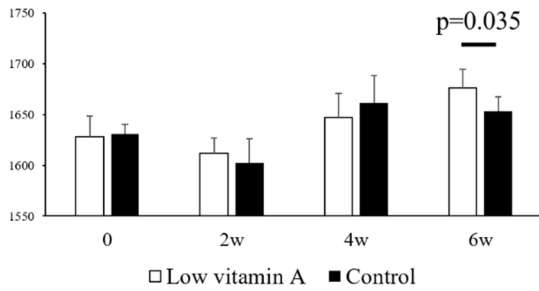


関節包の弾性評価

超音波顕微鏡(音速の評価)を使用した関節包の弾性評価ではいずれの群でも固定週数が長くなるとともに関節包の硬化が進んだが、6週固定において低ビタミンA群で有意に関節包の硬化がみられた。



Sound speed



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	秋原 嘉廣 (Hagiwara Yoshihiro) (90436139)	東北大学・医学系研究科・准教授 (11301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関