

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2023

課題番号：19K11413

研究課題名(和文) 糖尿病および加齢による線維化が関節構成体に及ぼす影響

研究課題名(英文) Effects of diabetes and age-related fibrosis on joint components

研究代表者

松崎 太郎 (Matsuzaki, Taro)

金沢大学・保健学系・助教

研究者番号：10401910

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)：糖尿病(高血糖)モデル、加齢モデルを作成し関節構成体を病理組織学的に検討した。血糖ラット群の血糖値は全て600mg/dl以上であった。 $\alpha$ -SMAに陽性を示す細胞の数はSTZ投与群では $4.0 \pm 2.1$ 個であり、対照群では $3.7 \pm 1.4$ 個でありSTZ投与群と対照群において有意差は認められなかった。加齢ラット膝蓋下脂肪体中の線維組織は平均 $85.5 \pm 2.6\%$ 、対照群では平均 $67.2 \pm 12.9\%$ であり加齢群で有意に増加していた。後部関節包では筋線維芽細胞と考えられる細胞は対照群に対し加齢群では有意に少なく関節可動域は加齢群で有意に伸展制限が見られた。加齢群の関節包は関節包の肥厚、線維の密生化が観察された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

加齢による関節構成体の変化として、膝蓋下脂肪体では線維組織の増生、脂肪細胞の縮小が観察された。今回の結果は加齢により線維化が生じている膝蓋下脂肪体においても関節運動を行うことにより膝蓋下脂肪体線維化の抑制が可能であることを示唆する。後部関節包では加齢により生じた組織の肥厚が運動負荷により線維の占める割合が減少(コラーゲン線維の密生化抑制)することが示された。加齢による変化は関節不動による拘縮モデルで観察された組織変化と同等のものと考えられ、今後は関節拘縮と加齢による変化がなぜ類似しているのかを様々な指標を用いて検索し「関節可動域制限」の新たな知見を得ることが重要となるであろう。

研究成果の概要(英文)：Diabetic (hyperglycemia) and aging models were created, and joint constructs were examined histopathologically. The number of cells positive for  $\alpha$ -SMA was  $4.0 \pm 2.1$  in the STZ-treated group and  $3.7 \pm 1.4$  in the control group, showing no significant difference between the STZ-treated and control groups. Fibrous tissue in the adipose bodies under the patella of aged rats averaged  $85.5 \pm 2.6\%$ , and  $67.2 \pm 12.9\%$  in the control group, showing a significant increase in the aged group. In the posterior joint capsule, there were significantly fewer myofibroblasts in the aging group than in the control group, and the range of motion of the joint was significantly limited in the aging group. In the joint capsule of the aged group, thickening of the joint capsule and densification of fibers were observed.

研究分野：リハビリテーション科学

キーワード：ラット 加齢 関節可動域制限 線維化

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

関節可動域障害は理学療法士の治療対象として大きな割合を占めているが、可動域障害を生じた関節構成体の組織学的な検索については記載が一致せず十分な理解が得られているとは言えない状況である。近年、関節包の損傷後に筋線維芽細胞が増生し組織の線維化を生じさせるとする報告がある。筋線維芽細胞は組織の修復時に分化・発現する細胞とされ、肺線維症、肝硬変などの線維化を生じる疾患で増生していることが知られている。これらの線維化を主徴とする疾患は原因として加齢による全身の慢性炎症が関与していることが示されている。また、糖尿病を発症し高血糖の状態が続くと全身の血管や神経で障害が生じ、特に線維化として糖尿病性腎症が生じる事が知られているため、ラット関節不動モデルで関節包の線維化が生じることを考えると、糖尿病モデル動物においても関節包をはじめとする関節構成体になんらかの変化が生じている可能性があると考えた。

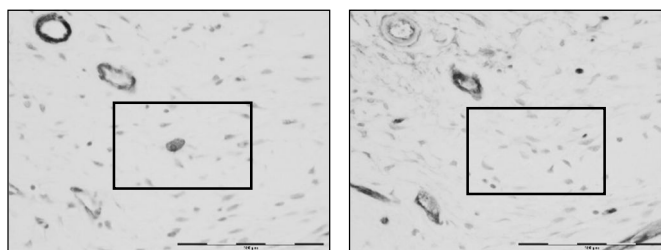


Fig.1 α-SMA:強拡  
関節包中に α-SMA 陽性、CD34 陰性の筋線維芽細胞と考えられる細胞が出現している

2. 研究の目的

加齢により関節が「堅くなる」ことは経験上知られており、関節可動域制限を生じた関節組織の組織学的な検討を行い、運動等により関節構成体がどのように変化するかを病理組織学的に観察またおよび糖尿病に伴う関節拘縮の病態像を病理組織学的に検討すること、また糖尿病による組織の線維化と関節拘縮に伴う病態像を病理組織学的に検討する目的でラットを用いた加齢モデル、糖尿病(高血糖)モデルを作成し、関節構成体の病理組織学的変化を観察する目的で実験を行った。

3. 研究の方法

1) 糖尿病(高血糖)ラットの作成

6 週齢の Wistar 系雄性ラット(体重(以下 BW): 160-180g)に streptozotocin を 100mg/Kg 静注し、1 週後に血糖値(以下 BS)が 300mg を超えたもの 6 匹を対象とした。13 週齢まで飼育し BW、BS 計測後に安楽死させ膝関節、腎臓、肝臓を標本化した。同週令の対照群も同様に標本化し、HE 染色を行い病理組織学的検討を、免疫染色を行い関節包内の筋線維芽細胞数を算出した (Fig.2)。

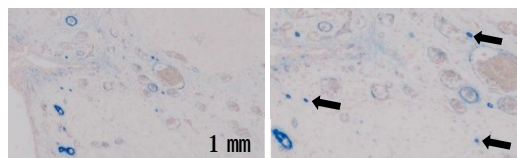


Fig.2 STZ 投与群の関節包と強拡図

実験終了時、高血糖ラット群の血糖値は全て 600mg/dl 以上であった。体重は STZ 投与群では 184.5 ± 15.2g であり、対照群では 304.2 ± 16.2g であり STZ 投与群と対照群では有意差を認めた。糖尿病ラットでは腎臓、肝臓では細小動脈の硝子化、脂肪細胞沈着等の変化はほぼ見られなかった。α-SMA に陽性を示す細胞の数は STZ 投与群では 4.0 ± 2.1 個であり、対照群では 3.7 ± 1.4 個であった (図 1)。STZ 投与群と対照群において有意差は認められなかった。

2) 加齢ラットの作成

9 週齢の Wistar 系雄性ラット 48 匹 (BW: 255 ~ 270g) を 75 週齢まで通常飼育し、先行研究と同様に後肢膝関節の可動域を計測した後に安楽死させ膝関節を標本化し高血糖ラットと同様に組織学的検討を行った。対照として 11 週齢の Wistar 系雄性ラット 12 匹を用い、組織学的検討を行った。観察部位は膝蓋下脂肪体の線維組織および後部関節包とした。

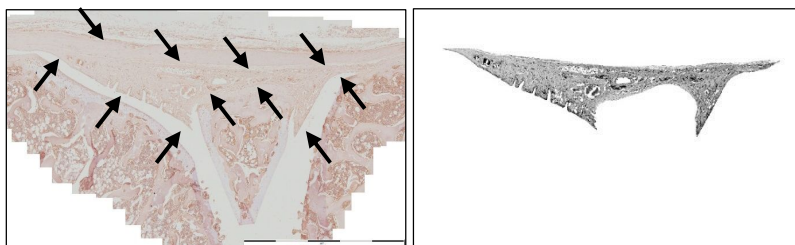


Fig.3 矢印で示した部分が膝蓋下脂肪体(TypeI Collagen)

膝蓋下脂肪体は Collagen type I で免疫染色を行い、関節軟骨、膝蓋腱、半月版を除去し組織中に線維が占める割合を算出した (Fig.3)。

後部関節包は関節包からの垂線を計測し (Fig.4)、他の実験



Fig.4 後部関節包の計測(HE)

と同様に筋線維芽細胞の数を算出した。

膝蓋下脂肪体:加齢群では平均  $85.5 \pm 2.6\%$ 、対照群では平均  $67.2 \pm 12.9\%$ であり、膝蓋下脂肪体中の線維は加齢群で有意に増加していた ( $p=0.007$ )。HE 染色による観察では、加齢群の膝蓋下脂肪体では脂肪細胞の数が減少し、萎縮または消失していると考えられる像が観察された。

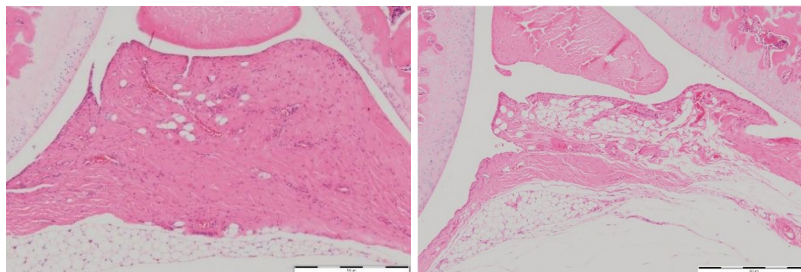


Fig.5 後部関節包の組織像、a: 加齢群 b: 対照群(HE)

後部関節包:筋線維芽細胞と考えられる細胞は対照群に対し加齢群では有意に少なく、関節可動域は加齢群で有意に伸展制限が見られた。加齢群の関節包は対照群と比較して関節包の肥厚、線維の密生化が観察された。

### 3) 加齢ラットに対する運動の効果

Wistar 系雄性ラット 30 匹を対象とした。60 週齢まで飼育したものを対照群 ( $n=8$ )、運動群 ( $n=10$ ) とし、介入を加えず 70 週齢まで飼育したものを加齢群とし、1 匹。対照群、加齢群は介入を加えずそれぞれの週齢で安楽死させ標本を作成した。運動群は 60 週齢より動物用トレッドミルを用いて 10 週間、週 5 回、10m/min の速度で 10 分間の運動負荷を行いその後標本を作製した。

膝蓋下脂肪体:線維の占める割合は運動群で  $56.1 \pm 14.7\%$ 、対照群で  $69.6 \pm 6.7\%$ 、加齢群で  $70.6 \pm 5.2\%$  となり運動群と対照群、運動群と加齢群に有意差を認めた (それぞれ  $p=0.009$ 、 $0.023$ )。

後部関節包内の線維組織:節包の染色面積は運動群で  $6.46 \pm 1.65\text{mm}^2$ 、対照群で  $8.64 \pm 2.26\text{mm}^2$ 、加齢群で  $9.36 \pm 1.66\text{mm}^2$  であり、関節包全体の面積は運動群で  $9.52 \pm 2.35\text{mm}^2$ 、対照群で  $10.5 \pm 2.42\text{mm}^2$ 、加齢群で  $12.4 \pm 2.65\text{mm}^2$  であった。後部関節包内面の線維の占める割合は運動群で  $61.7 \pm 11.8\%$ 、対照群で  $70.4 \pm 8.6\%$ 、加齢群で  $70.7 \pm 9.3\%$  となり運動群と加齢群で有意差を認めた ( $p=0.02$ )。

## 4. 研究成果

当初の仮説と異なり、糖尿病(高血糖)モデル動物において関節を構成する組織に病理組織学的な差異は観察されなかった。BS は  $600\text{mg/dl}$  以上、体重の減少が見られたにもかかわらず腎臓、肝臓の組織学的検索では顕著な組織変化が見られずヒトとの生物学的な違いによるものかもしれない。組織の線維化は観察されなかったが筋や関節包の柔軟性、血流量等については検討を行っていないため、今後の検討課題となる。

加齢による関節構成体の変化として、膝蓋下脂肪体では線維組織の増生、脂肪細胞の縮小が観察された。膝蓋下脂肪体の役割についてはまだ統一されたものが無いが、関節運動の一助となる事、関節運動時の痛みの原因になること、神経終末が豊富なことが報告されている。今回の結果は加齢により線維化が生じている膝蓋下脂肪体においても関節運動を行うことにより膝蓋下脂肪体の線維面積の減少(線維化の抑制)が可能であることを示唆する。

後部関節包では加齢により生じた組織の肥厚が運動負荷により線維の占める割合が減少(コラーゲン線維の密生化抑制)することが示された。

これらの加齢による病理組織学的変化は我々が従来行って来た「関節不動による拘縮モデル」で観察された組織変化と同等のものと考えられるが、加齢により生じる慢性炎症が組織増生を引き起こすとされるものがなぜ関節不動で生じるのかは明らかではない。

今後は関節拘縮と加齢による変化がなぜ類似しているのかを筋線維芽細胞、telocyte など様々な指標を用いて検索し「関節可動域制限」の新たな知見を得ることが重要となるであろう。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Matsuzaki Taro, Takahashi Ikufumi, Hoso Masahiro	4. 巻 35
2. 論文標題 Age-related changes in rat joint capsule	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Physical Therapy Science	6. 最初と最後の頁 763 ~ 767
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1589/jpts.35.763	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 吉井 優平、畑 正博、松崎 太郎	4. 巻 47
2. 論文標題 加齢ラットに対する運動が膝蓋下脂肪体および関節包へ与える影響	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of wellness and health care	6. 最初と最後の頁 15 ~ 21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.24517/0002000309	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------