

令和 3 年 6 月 3 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K18450

研究課題名(和文) 光音響システムによる変形性膝関節症の疼痛と血流・癒着の関連性の評価

研究課題名(英文) Evaluation of the relationship between pain, blood flow and adhesion in knee osteoarthritis using photoacoustic system

研究代表者

板谷 信行 (Itaya, Nobuyuki)

東北大学・医学系研究科・大学院非常勤講師

研究者番号：10837834

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：ラット変形性膝関節症モデルを作成し、光音響システムを用いて吸入麻酔下に膝関節周囲の血流を観察し、関節包周囲における血流の経時的な増加を明らかにした。組織の免疫染色により関節包周囲の血管の観察をし、血管の増生を確認した。関節包周囲組織を採取し、RT-PCRを用いて血管新生に関わる遺伝子の発現の増加を明らかにした。

本研究から、光音響システムを用いることで生体の関節周囲の血流の状態の観察が可能であること、変形性関節症の関節包周囲において血管の異常増生が存在することが明らかとなった。変形性膝関節症の新しい疼痛のメカニズムと治療の開発への基礎的基盤的研究となる極めて重要な結果が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

変形性膝関節症の疼痛の原因の一つとして膝関節周囲組織の異常血管の増生が関連している可能性が示唆されるが、基礎的に詳細を検討した報告は少ない。本研究から、光音響システムを用いることで生体(吸引麻酔下)の関節周囲の血流の状態の観察が可能であること、変形性関節症の関節包周囲において血管の異常増生が存在することが明らかとなった。

この成果より今後、光音響システムを用いて関節周囲の異常血管と疼痛の関係性をさらに明らかにし、関節外への治療の効果を検証することが可能となった。変形性膝関節症の新しい疼痛のメカニズムと治療の開発への基礎的基盤的研究となる極めて重要な結果が得られた。

研究成果の概要(英文)：A rat model of knee osteoarthritis was created, and blood flow around the knee joint was observed under inhalation anesthesia using a photoacoustic system to reveal a temporal increase in blood flow around the joint capsule. The periarticular blood vessels were observed by immunostaining the tissue, and a prominent increase in the number of vessels was confirmed. Periarticular tissues were harvested and RT-PCR was used to reveal an increase in the expression of genes involved in angiogenesis.

This study revealed that (1) it is possible to observe the state of blood flow around joints in vivo by using a photoacoustic system, and (2) there is an abnormal increase in the number of blood vessels around the joint capsule in osteoarthritis. The results are extremely important as basic research for the development of new pain mechanisms and treatments for osteoarthritis of the knee.

研究分野：Osteoarthritis

キーワード：変形性膝関節症 異常血管 血流 疼痛 光音響システム 癒着 炎症

1. 研究開始当初の背景

変形性膝関節症(以下、膝 OA)は、関節軟骨の摩耗や半月板の変性・断裂による関節内の炎症、関節の変形が痛みを生じる疾患と認知されており、関節内へのヒアルロン酸やステロイド注射が一般的な保存的治療方法である。しかし、その効果は限定的であり、治療に苦慮することも多い。本邦では膝 OA による痛みを伴った患者が約 1000 万人いるとされるが (Muraki S, et al. Osteoarthritis Cartilage. 2009)、レントゲン所見(図 1)はあるが疼痛がない患者は約 2000 万人と試算されている (Yoshimura N, et al. J Bone Miner Metab. 2009)。

また、スポーツ少年団の野球選手を対象とした調査では体幹の痛みが膝痛に関連し、東日本大震災被災者を対象にした調査では心理的苦痛が膝痛に関連することから (Yabe Y, Itaya N, et al. Tohoku J Exp Med 2017)、従来考えられてきた関節内の炎症や変形だけを痛みの原因とすることは議論の余地がある。

近年、異常血管の増生(図 2)が関節の疼痛に関与していることが報告されている。

膝関節においても関節外組織の血管カテーテル検査を行うと、疼痛の部位に一致して異常血管が増生しており、カテーテル塞栓術を行うと疼痛が改善することが報告されている (Okuno Y, et al. J Vasc Interv Radiol. 2017)。

この膝関節周囲の異常血管の増生は、臨床の場合でも疼痛の部位に一致して超音波検査(カラードップラー法)や造影 MRI でしばしば確認され、膝痛の原因の一つと考えられる。

整形外科領域では超音波診断装置の普及が加速してきており、非侵襲的な診断モダリティとして広く利用されている。また、ハイドロリリース(疼痛部位の筋膜の癒着を超音波ガイド下注射で剥離する)によって、直後より疼痛が改善することが報告され、痛み治療のパラダイムシフトとして注目されている。

研究代表者は膝内側関節裂隙周囲の異常な血管増生に対してハイドロリリースを行い、即時的に疼痛の改善が得られ、異常血管が縮小することを経験している(図 3 矢印: 血流増加、*: 剥離)。この現象は、膝 OA の疼痛の原因が関節外組織の癒着や異常血管に係ることを示唆する。ハイドロリリースは一般的な治療になりつつあるが、そのエビデンスは乏しいのが現状である。異常血管・組織の癒着と痛みとの関連を明らかにできれば、新たな治療戦略を構築し、増加する医療の削減にも多大なる貢献が可能となる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、ヒト指用開発されたアーク型超音波トランスデューサー(東北大学医工学研究科 西條芳文教授 科研費 基盤研究(B))を用い、ラット膝 OA モデルにおける疼痛とそ

変形性膝関節症



図 1

単純レントゲン写真

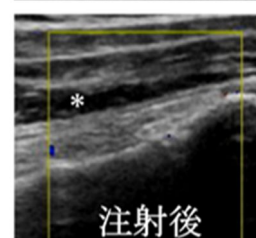
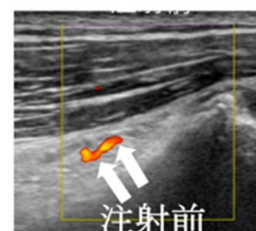
異常血管



図 2

血管カテーテル検査

ハイドロリリース



ドップラー法

図 3

の関節周囲の血流及び癒着との関連を明らかにすることである。

一般的な超音波診断装置では、リニア/コンベックス/セクタのアレイ型振動子が用いられることがほとんどであった。本装置の概略を示す(図4左)。

本装置は多方向から超音波/光音響信号を送受信し鮮明なCT画像を得ることが出来る(図4右:皮下の血流)。また、これまでにカラードップラー法では描出できなかった皮膚の毛細血管網の描出を既に成功しており、毛細血管3次元イメージに成功している(図5)。

さらには、非侵襲的に組織酸素飽和度分布も観察できる。そのため、本研究は(1)分解能を飛躍的に高めるアーク型光音響トランスデューサーを使用し、疾患・部位に特化した詳細な評価を行う点、(2)組織酸素飽和度も観察が可能で、非侵襲的に組織酸素飽和度分布を観察できる点、(3)変形性膝関節症の疼痛に関するまったく新しい概念(血流・癒着)についての先進的な基礎研究となる点、(4)本研究で得られた結果から変形性膝関節症の疼痛に関連する全く新しい評価デバイス(図6)の開発につながり、将来的に医療機器として実用化するための戦略についても配慮している点が学術的特色である。

また、開発を目指す装置は膝以外の部位でも使用が可能であり、運動器関連だけでなく皮膚の診断デバイスとしての利用価値も非常に高い。東北大学臨床研究推進センターの協力を得ながら、医師主導型治験も行える準備も整っている。

3. 研究の方法

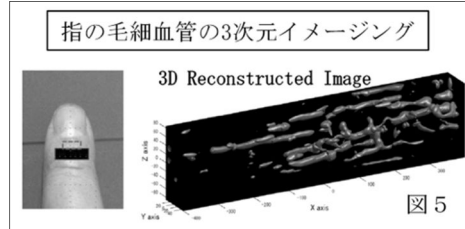
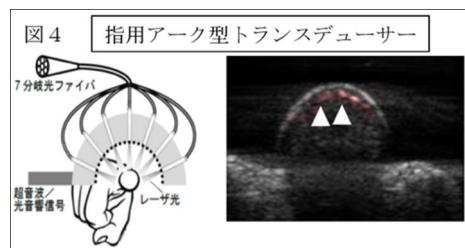
本研究の展望を含めた全体像のチャートを示す(図7)。本研究には学術的観点から豊富な経験と高度な技術を有し、専門知識・技術は本研究遂行に必須であり、チャートに記載した如く2名の研究協力者を置く。本研究では、このチャートのうち 指用アーク型光音響トランスデューサーを用いたラット膝 OA モデルの経時的観察、

観察部位の疼痛の評価及び組織学的観察、酸素濃度の計測、遺伝子解析と免疫染色による評価を行い、ラットにおける膝 OA の関節周囲の血流と癒着についての変化を検証する。

<ヒト指用アーク型光音響トランスデューサーを用いたラット変形性膝関節症モデルの経時的観察>

本装置でラット膝関節の観察が可能なることを既に確認している。さらには、本装置は非侵襲的に組織酸素飽和度分布を観察できる。

生後12週の雄のSprague-Dawley ratsの片側の膝関節に麻酔下にMonoiodoacetate 0.5mgを関節内注射しラット膝OAモデルとし、0.9%生理食塩水を関節内注射したものを対照群とする。注射後の2, 4, 6週(n=6/群)の膝関節内側関節裂隙周囲の組織の光音響信



本研究 図7

動物実験での実証

研究代表者: 板谷 信行
研究協力者: 西條 芳文
研究協力者: 萩原 嘉廣

- ①指用アーク型光音響トランスデューサーを用いたラット変形性膝関節拘縮モデルの経時的観察
- ②観察部位の疼痛の評価及び組織学的観察、酸素濃度の計測、遺伝子解析と免疫染色による評価

展望

臨床現場での実証

研究代表者: 板谷 信行
研究協力者: 西條 芳文

- ③膝の形状考慮したアーク型光音響トランスデューサーの設計及び送受信アルゴリズムの開発
- ④膝用の3次元光音響CTシステムの構築

研究代表者: 板谷 信行
研究協力者: 萩原 嘉廣

- ⑤正常者および変形性膝関節症患者でのFirst in man study

号を吸入麻醉下に測定し（図 8）血管網の変化及び組織酸素飽和度分布の経時的な変化を比較し、評価・検討する。

< 観察部位の疼痛の評価及び組織学的観察、酸素濃度の計測、遺伝子解析と免疫染色による評価 >

ラット膝 OA モデル及び対照群の 2, 4, 6 週 (n=6/群) での疼痛の評価及び組織の変化を観察する。具体的には、まず組織標本における組織学および組織形態

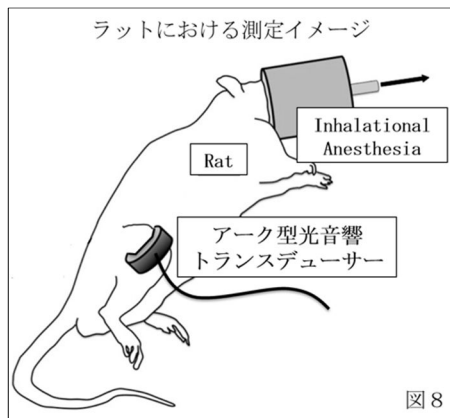
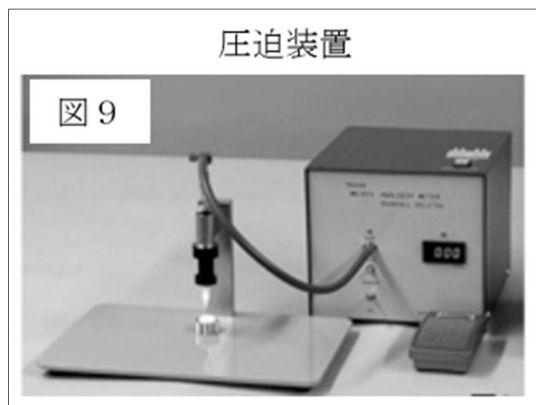


図 8

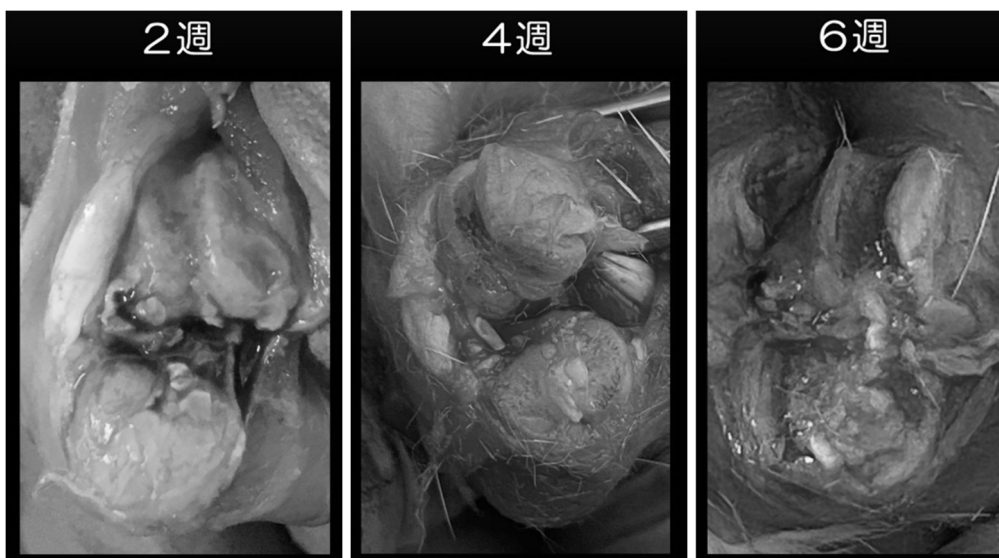
計測と免疫染色(-SMA 染色による血管分布及び密度の測定)を行い、癒着及び血流の変化している部位を同定し、前年度の結果との整合性を得る。次いで Randall Selitto 法(プラスチック製の円錐形の押子を通じて疼痛部位に徐々に圧を加える方法(図 9: 圧迫装置))で癒着及び血流の変化している部位の疼痛の有無を検討する。さらに、同部位及びそれ以外の部位から組織サンプリングし、酸素濃度の計測及び遺伝子解析(血管関連: -SMA、VEGF、HIF-1、FGF2 等、疼痛関連: NLRP3、Caspase-1、IL-1、IL-18 等の定量 PCR による解析)を行い、ラット膝 OA モデル及び対照群での経時的な変化を比較し、評価・検討する。



4. 研究成果

(1) 実験ラットの最適化をするために、複数の濃度の Monoiodoacetate を関節内注射したラットの膝関節内を経時的に肉眼的に観察した。0.4mg/50 μ L の Monoiodoacetate の濃度を注射した膝関節が最も適した変形性関節症性変化(図 10)を示した。

図 10 Monoiodoacetate (0.4mg/50 μ L) による変形性関節症性変化

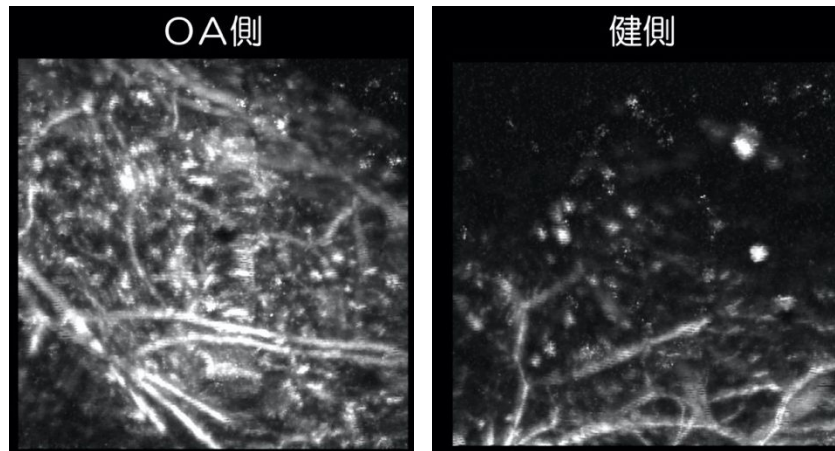


(2) 光音響システムで観察した関節包周囲組織の採取を行い、定量 PCR の解析を行った。血管関連の遺伝子の発現が OA 側で多い傾向にあった。

(3) 光音響システムにて麻醉下にラットの膝関節包周囲の血流の観察が可能であった。

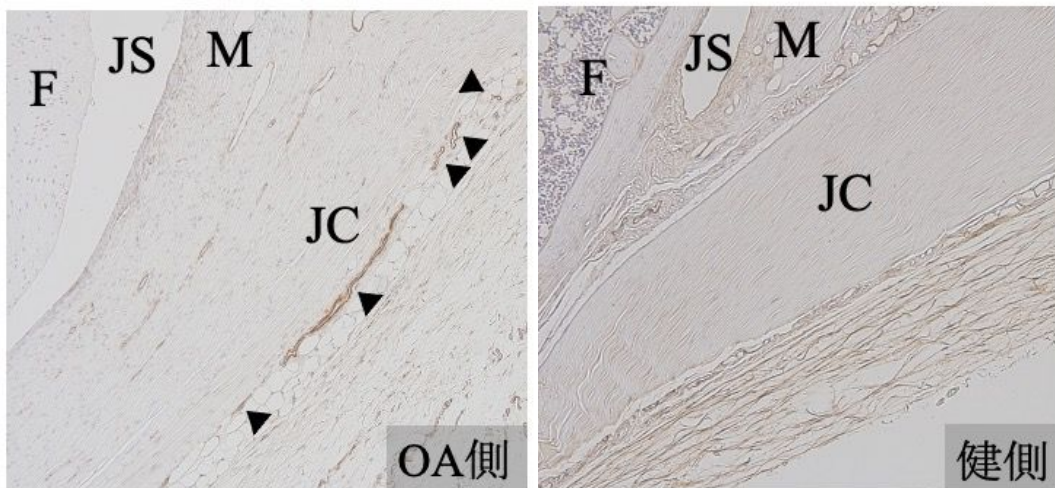
Monoiodoacetate 注射後の 2 . 4 . 6 週のいずれの時点でも健側と比較して OA 側の関節包周囲の血流の増加が確認された。(図 11)


図 11 注射 6 週後の関節包周囲の血流



(4) 超音響システムで観察した関節包周囲組織の組織学的観察を行った。 -SMA 染色による血管分布、膝関節包周囲に血管の増生を確認した。(図 12)

図 12 -SMA 染色による血管分布



F : 大腿骨、 JS : 関節腔、 M : 半月板、 JC : 関節包、  : 関節包周囲の血管

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
研究協力者	西條 芳文 (Saijou Yoshihumi) (00292277)	東北大学・大学院医工学研究科・教授 (11301)	
研究協力者	萩原 嘉廣 (Hagiwara Yoshihiro) (90436139)	東北大学・大学院医学系研究科・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