

令和 5 年 5 月 23 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K19444

研究課題名（和文）関節軟骨の廃用症候群における運動療法の確立と変形性関節症の発症に及ぼす影響

研究課題名（英文）Establishment of Exercise Therapy in Disuse Syndrome of Articular Cartilage and Its Effect on the Development of Osteoarthritis

研究代表者

高橋 郁文（Takahashi, Ikufumi）

金沢大学・附属病院・理学療法士

研究者番号：30743835

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：本申請研究では、以下の2つのことを組織学的に検討することを目的とした。関節軟骨の廃用性萎縮とOAの組織学的関連を明らかにすること、関節軟骨の廃用性萎縮に対する再荷重による治療効果を明らかにすること。その結果、関節軟骨の廃用性萎縮は変形性関節症の早期発症と重症化に関与すること、および変形性関節症の進行は非荷重状態によって抑制されること、関節軟骨の廃用性萎縮は再荷重によって組織学的に回復することが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は「研究成果の概要」に述べた2つの点を組織学的に明らかにした。これらの知見は、関節軟骨の廃用性萎縮が異なる他の病気になりやすい状態であることと示唆するとともに、関節軟骨の可塑性について重要な画期的な組織学的知見である。このように、本研究で得られた新たな知見はいずれも理学療法分野で不足していた運動器における組織学的エビデンスを構築するものである。したがって、今後エビデンスに基づいた理学療法の確立に寄与するものであり、临床上での治療に有益な知見であると考えられる。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this application study was to investigate the following two things histologically. (1) to clarify the histological relationship between disuse atrophy of articular cartilage and OA, and (2) to clarify the therapeutic effect of reloading on disuse atrophy of articular cartilage.

The results revealed that (1) disuse atrophy of articular cartilage is involved in the early onset and severity of osteoarthritis and that the progression of osteoarthritis is inhibited by the non-weight bearing condition, and (2) disuse atrophy of articular cartilage can be histologically restored by reloading.

研究分野：理学療法学

キーワード：関節軟骨 廃用性萎縮 変形性関節症 再荷重 運動 理学療法

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

非荷重環境において関節軟骨に廃用性の組織学的変化が生じることが報告され、「関節軟骨における廃用症候群」として提唱された。この廃用性変化の生じた関節軟骨は、運動負荷によって回復する可能性がある一方で、正常関節軟骨と比較して変形性関節症(以下 OA)を発症しやすいことが報告されている。しかしながら、運動負荷によって実際に回復するかどうか、および正常関節軟骨と比較した OA 進行過程や進行速度の違いについては、その組織学的な詳細は明らかになっていない。

### 2. 研究の目的

以上より、申請研究の目的は、ラット後肢非荷重モデルを用いて、関節軟骨の廃用性萎縮と OA の組織学的関連を明らかにすること、関節軟骨の廃用性萎縮に対する再荷重による治療効果を明らかにすること、以上の 2 点を組織学的に明らかにすることである。

### 3. 研究の方法

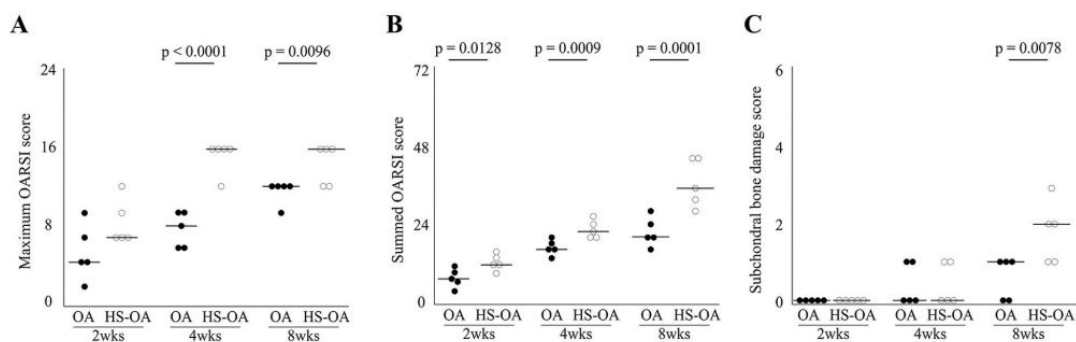
まず、萎縮した関節軟骨において OA がどのように進行するのかを明らかにするために以下の実験系を構築した。対象として 9 週齢の Wistar 系雄性ラット 10 匹を使用した。実験動物は 5 匹ずつ 2 群に分け、4 週間の通常飼育後に OA を惹起する OA 群と、4 週間の後肢懸垂後に OA を惹起する HSOA 群とした。実験期間は OA 惹起後 4 週とした。OA は外科的に内側半月板を不安定化することで惹起し、後肢懸垂はワイヤーによる尾部懸垂方法を採用した。飼育期間後、膝関節の前額面標本を作成し、ヘマトキシリン・エオジン染色およびトルイジンブルー染色を実施した。その後、光学顕微鏡を用いて脛骨の関節軟骨に生じる組織学的変化を OARSI score および Subchondral bone damage score を用いて評価した。また、平均軟骨厚、基質染色性、軟骨細胞の密度、骨棘長を計測し、統計学的に解析した。

さらに、OA 進行と関節軟骨の廃用性萎縮が同時に進行した場合の組織学的影響を明らかにするために、以下の実験系を構築した。対象として 13 週齢の Wistar 系雄性ラット 20 匹を使用した。実験動物は 10 匹ずつ 2 群に分け、OA を惹起したのちに通常飼育を行う OA 群と、OA を惹起したのちに後肢懸垂を行う OAHS 群とした。実験期間は OA 惹起後 2 および 4 週とした。外傷性 OA モデルは外科的な内側半月板不安定化により作成し、後肢懸垂はワイヤーによる尾部懸垂方法を採用した。飼育期間後、膝関節の前額面標本を作成し、ヘマトキシリン・エオジン染色およびトルイジンブルー染色を実施した。その後、光学顕微鏡を用いて脛骨の関節軟骨に生じる組織学的変化に対しては OARSI score を用いた評価に加えて、平均軟骨厚、基質染色性、軟骨細胞の密度を計測した。軟骨下骨に対しては、Subchondral bone damage score を用いて評価し、骨棘形成に対しては、骨棘長を計測した。滑膜炎に対しては、Synovitis scoring system を用いた評価と滑膜厚を計測し、以上の評価項目を統計学的に解析した。

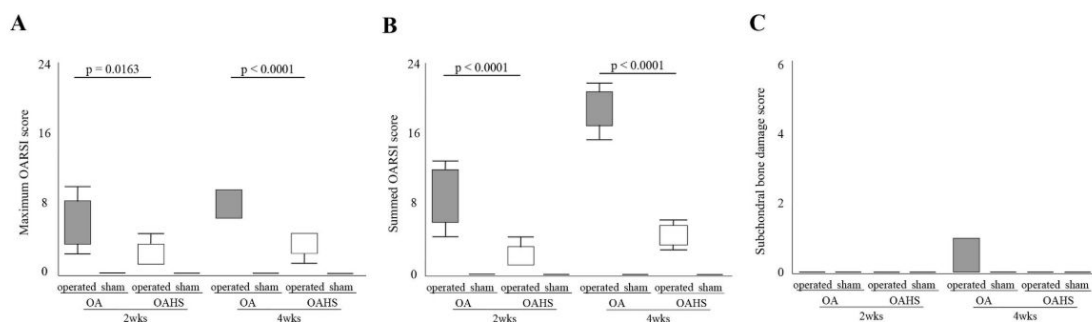
対象として 9 週齢の Wistar 系雄性ラット 30 匹を使用し、実験動物は対照群、後肢懸垂群、再荷重群に分けた。対照群は 4、6、8 週間の通常飼育を行い、後肢懸垂群は 4 週間後肢懸垂下で飼育を行った。再荷重群は 4 週間の後肢懸垂の後、2 週間および 4 週間の再荷重を行った。後肢懸垂はワイヤーによる尾部懸垂方法を採用した。飼育期間後、両膝関節の前額面標本を作成し、一般染色としてヘマトキシリン・エオジン染色およびトルイジンブルー染色を、免疫組織化学的染色として型コラーゲン、アグリカン、MMP13、ADAMTS5 に対する染色を行った。その後、光学顕微鏡を用いて、軟骨に対する評価として軟骨厚、基質染色性、軟骨細胞密度、層割合を計測した。また骨に対する評価として骨量と軟骨下骨厚を計測した。

#### 4. 研究成果

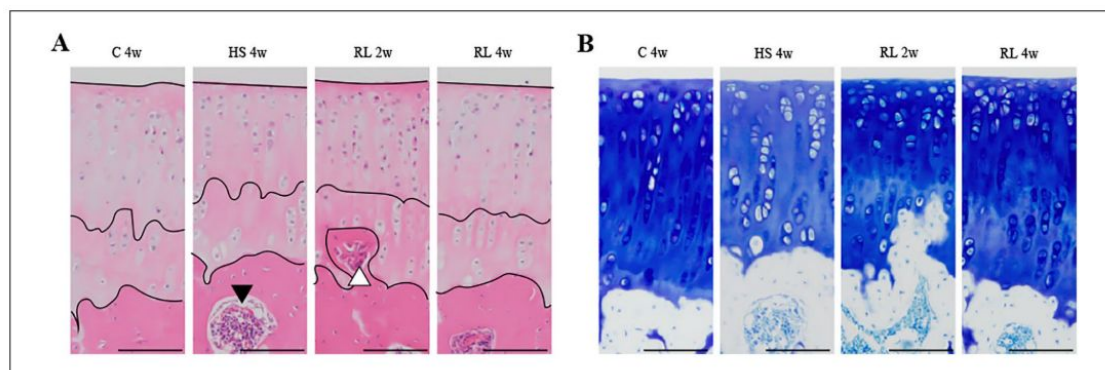
両群ともに術後4週間にて内側脛骨大腿関節の関節軟骨にOAに典型的な組織学的変化を認めた。その組織学的変化の範囲および深さはHSOA群の方が大きく、Maximum OARSI scoreおよびSummed OARSI scoreはOA群と比較して、HSOA群の方が統計的に有意に高値であった。なお、Subchondral bone damage score、平均軟骨厚、基質染色性、軟骨細胞の密度、骨棘長に関しては両群間に有意な差は認められなかった。



術後2週および4週において、OAHS群はOA群と比較してOARSI scoreでは有意に低値を、軟骨細胞密度では有意に高値を示した。骨棘形成ではOAHS群は術後4週で低値を示し、滑膜厚では術後2週で低値を示した。なお、実験期間を通して、軟骨厚および基質染色性、軟骨下骨の組織学的変化、Synovitis scoring systemにおいて両群間に有意な差は認めなかった。



4週間の後肢懸垂によって、軟骨厚および基質染色性、骨量および軟骨下骨厚の有意な低下を認めた。再荷重2週によって、軟骨厚、基質染色性は対照群と同等まで回復し、細胞密度は再荷重によって有意な増加を認めた。層割合では、非荷重によって非石灰化層は有意に減少し、石灰化層は有意に増加したが、4週間の再荷重によって対照群と同等まで回復した。骨においては、対照群と同等まで回復するために骨量は2週間、軟骨下骨厚は4週間を必要とした。免疫組織化学的分析では、型コラーゲンは実験期間を通じて有意な変化を認めなかったが、アグリカンは実験期間を通じて有意に増加した。またMMP13およびADAMTS5は非荷重によって有意に増加した。



以上のように、本申請研究では関節軟骨の廃用性萎縮に関する可塑性とOAとの関連を組織学的手法を用いて明らかにした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Takahashi Ikufumi、Matsuzaki Taro、Kuroki Hiroshi、Hoso Masahiro	4. 巻 13
2. 論文標題 Physiological Reloading Recovers Histologically Disuse Atrophy of the Articular Cartilage and Bone by Hindlimb Suspension in Rat Knee Joint	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 CARTILAGE	6. 最初と最後の頁 1530S ~ 1539S
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1177/19476035211063857	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takahashi Ikufumi、Takeda Keisuke、Matsuzaki Taro、Kuroki Hiroshi、Hoso Masahiro	4. 巻 16
2. 論文標題 Reduction of knee joint load suppresses cartilage degeneration, osteophyte formation, and synovitis in early-stage osteoarthritis using a post-traumatic rat model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0254383
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0254383	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takahashi Ikufumi、Matsuzaki Taro、Kuroki Hiroshi、Hoso Masahiro	4. 巻 In press
2. 論文標題 Disuse Atrophy of Articular Cartilage Induced by Unloading Condition Accelerates Histological Progression of Osteoarthritis in a Post-traumatic Rat Model	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 CARTILAGE	6. 最初と最後の頁 In press
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1177/1947603520982350	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3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 高橋郁文 松崎太郎 黒木裕士 細正博
2. 発表標題 変形性関節症早期における膝関節軟骨への荷重減少は軟骨変性、骨棘形成、滑膜炎を抑制する
3. 学会等名 第26回日本基礎理学療法学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高橋郁文 松崎太郎 黒木裕士 細正博
2. 発表標題 廃用性萎縮を呈した関節軟骨では変形性関節症の進行は速い ラット変形性関節症モデルを用いた組織学的検討
3. 学会等名 第25回日本基礎理学療法学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高橋郁文
2. 発表標題 理学療法学の観点に基づいた関節軟骨に対する組織学的研究
3. 学会等名 第25回日本基礎理学療法学会学術大会 若手研究者による先端的基础理学療法研究紹介
4. 発表年 2020年

〔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
---------	---------