

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：32607

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K16716

研究課題名（和文）肩峰下滑液由来レプチンを介した腱板断裂後の炎症・疼痛制御機構の解明

研究課題名（英文）Leptin-mediated inflammation and pain pathway following rotator cuff tear

研究代表者

田澤 諒（Tazawa, Ryo）

北里大学・医学部・助教

研究者番号：30749883

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）：腱板断裂におけるレプチン（leptin）の動態とその疼痛への関与を検討した。加齢および高脂肪食（HFD）ラットモデルを使用して、腱板組織におけるレプチンの発現動態を調査した。加齢ラットでは、中年期にレプチン発現がピークを迎え、高齢期には高い状態が維持されることが示唆された。HFDラットでは、血清レプチン濃度が増加する一方で、腱板局所におけるレプチン発現に有意差は認められなかった。しかし、RNA-Seq解析でAdipocytokineシグナル経路の亢進が確認された。腱板断裂モデルでは、レプチンとNetrin-1の発現が有意に上昇した。レプチンがNtn1を介して疼痛に関与する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、腱板断裂後の疼痛メカニズムにおけるレプチンの役割を明らかにし、その結果として新たな疼痛緩和治療法の開発に寄与する可能性を示した点で学術的意義がある。特に、レプチンとNetrin-1の発現動態の関連性を明らかにしたことで、疼痛メカニズムの理解が深化し、将来的な研究における新たな標的が明らかになった。社会的意義としては、超高齢社会において増加する腱板断裂患者の生活の質向上に貢献できる点が挙げられる。本研究の成果を基に、新しい治療法が開発されれば、肩痛に苦しむ多くの患者に対する効果的な治療手段が提供され、医療費の削減や労働力の維持・向上にも寄与することが期待される。

研究成果の概要（英文）：This study aimed to elucidate the dynamics of leptin and its involvement in pain associated with rotator cuff tears. Using aging and high-fat diet (HFD) rat models, we investigated the expression dynamics of leptin in rotator cuff tissue. In aging rats, leptin expression peaked in middle age and remained elevated in old age. In HFD rats, while serum leptin levels increased, there was no significant difference in leptin expression in the rotator cuff tissue between the HFD and normal diet (ND) groups. However, RNA analysis revealed the activation of the adipocytokine signaling pathway. In the rotator cuff tear model, leptin and Netrin-1 (Ntn1) expression significantly increased on day 14 post-tear. These results suggest that leptin may be involved in pain through the mediation of Ntn1. Thus, targeting leptin and Ntn1 could lead to the development of new pain relief treatments.

研究分野：整形外科学

キーワード：レプチン 腱板断裂

1. 研究開始当初の背景

超高齢社会の我が国において肩腱板断裂患者は増加している。腱板断裂は 60 歳以上の約 30% に生じるが、その疼痛機序は明らかになっていない。腱板断裂による肩関節痛は患者の生活の質、日常生活動作を著しく低下させるため、疼痛機序解明は重要である。しかし、その病態は十分に明らかになっていない。

Leptin は脂肪細胞から分泌されるホルモンであり、エネルギー代謝や食欲調節に関与するだけでなく、炎症や疼痛にも関連することが示されている。申請者はこれまでに肩峰下滑液包ではレプチンの発現が高いことを報告してきた。他方、筋組織において、leptin は炎症性サイトカインの発現を制御することを報告してきたが、肩峰下滑液包における leptin の動態や役割については明らかになっていない。

2. 研究の目的

腱板断裂における leptin の動態と疼痛への関与の可能性を明らかにすることである。

3. 研究の方法

3-1. 加齢ラット、高脂肪食ラットの腱板組織における leptin の発現動態

申請者等の以前の研究では加齢に伴い筋組織における leptin の発現が増加した。本研究では、ラット腱板組織における leptin 発現の加齢性変化を検討した。また、肥満ラットでは leptin が亢進することが知られている。そこで高脂肪食ラットモデルを用いた検討を行った。9 週齢 Wistar rat に高カロリー食 (high fat diet, HFD) あるいは通常食 (normal diet, ND) にて 2-12 週間飼育した。飼育後、腱板組織を採取した。RNA 抽出液でホモジナイズ後、フェノール/クロロホルム抽出法を用いて RNA を精製した。その後、real time PCR (n=10) および RNA-Seq (n=2) を行った。また、血清中の Leptin 濃度を ELISA 法を用いて検討した。

3-2. ラット腱板断裂モデルにおける Leptin および Ntn1

近年、軸索伸長制御因子は変形性関節症における疼痛に関与する可能性が示唆されている。3-1. において、HFD 群で軸索伸長制御因子である Netrin-1 (*Ntn1*) の発現が亢進したため、ラット腱板断裂モデルを用いた更なる検討に着手した。8 週齢雄 Wistar ラット 50 匹を用い、Control 群 (Day 0)、腱板断裂群 20 匹、Sham 群 20 匹を作製した。腱板断裂群と Sham 群はモデル作成後、3・7・14・28 日後にそれぞれ 5 匹ずつ腱板組織を採取した RNA を抽出後、real time PCR を用いて Leptin, *Ntn1* の発現を検討した。

4. 研究成果

4-1. 加齢ラット、高脂肪食ラットの腱板組織における Leptin の発現動態

腱板組織における leptin の発現は 3 カ月齢ラットに比べ、6 カ月齢ラットで有意に高かった。しかし、3 カ月齢と 12 カ月齢ラットとの間に有意な差は認められなかった(図 1)。これにより、leptin の発現は中年期にピークを迎え、その後は高い状態が維持される可能性が示唆された。

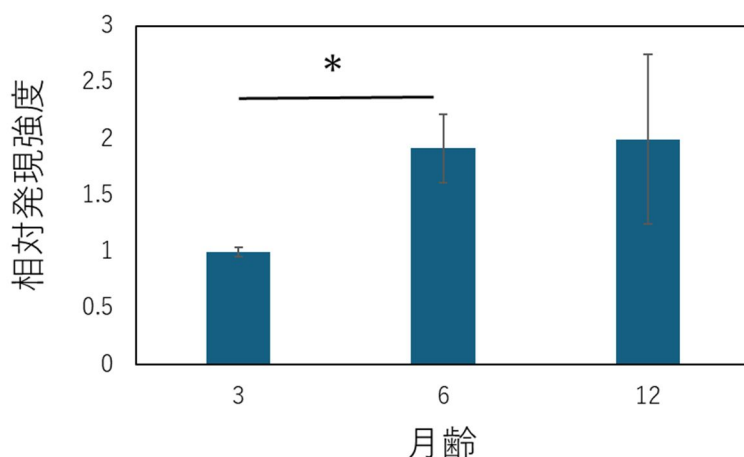


図 1. 加齢に伴う Leptin 発現の変化

HFD 群では血清中の Leptin 濃度、コレステロール、トリグリセリド濃度は経時的に増加したが、ラットの腱板局所における leptin の発現は HFD 群と ND 群の間に有意な差は認められなかった。しかし、RNA 解析においては Adipocytokine signaling pathway の亢進を認めた(図 2)。従っ

て、肥満患者においては局所の leptin ではなく、循環 leptin が腱板組織に影響を与えている可能性が示唆された。また、疼痛に関与する因子として Axon guidance gene 経路が同定された。これらの結果から Leptin による Axon guidance gene 制御が疼痛に関与している可能性が示唆された。

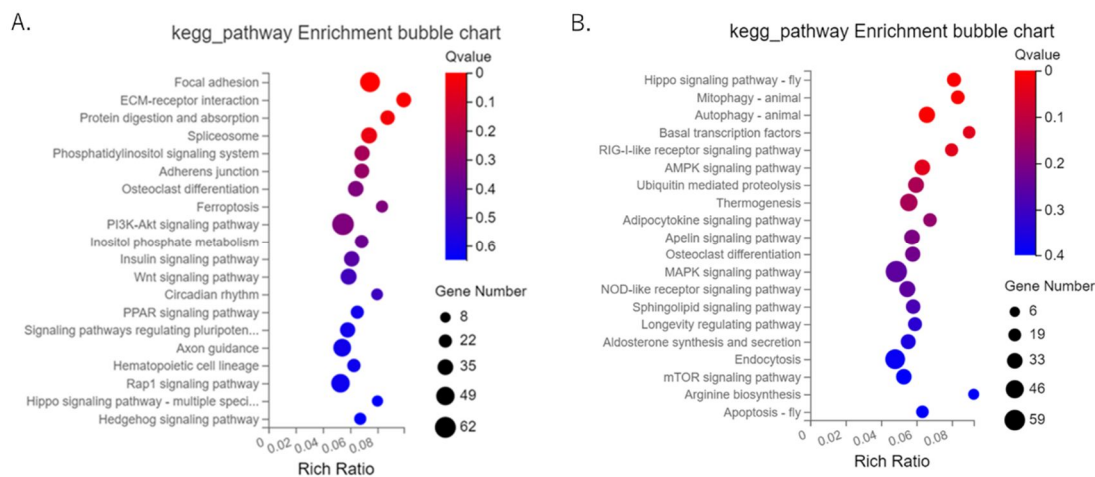


図 2. HFD ラット腱板組織の RNA-Seq 解析

4-2. 腱板断裂における *Leptin* の発現動態

腱板断裂時の *Leptin* の動態と、RNA-Seq 解析の結果上昇が認められた *Ntn1* の発現との関連性を検討した。*Leptin* の発現は腱板断裂後 14 日目に sham 群に比べ有意に上昇した (図 3A)。また、*Leptin* の発現上昇と同時期に *Ntn1* の発現増加を認めた (図 3B)。このことから、*leptin* と *Ntn1* の間に関連性がある可能性が示唆された。*Ntn1* は軸索伸長制御因子として知られ、疼痛に関与する可能性が報告されている。本研究結果からも、腱板断裂後の疼痛メカニズムにおいて *leptin* が *Ntn1* の発現を介して作用しているかもしれない。

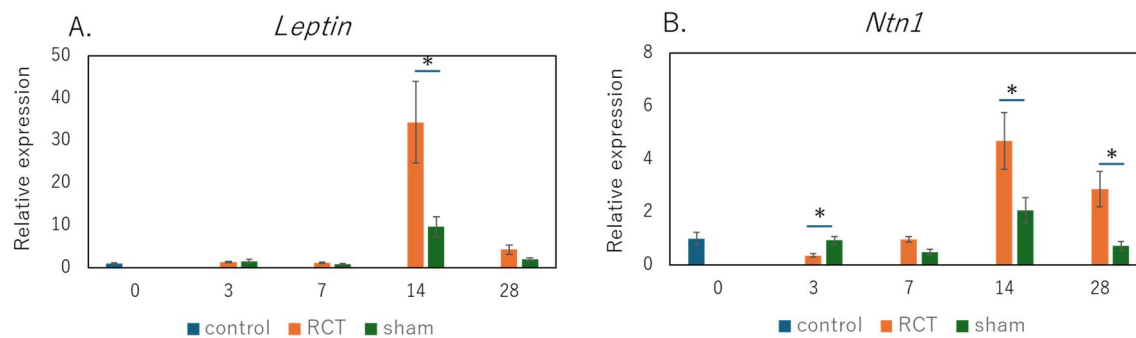


図 3. 腱板断裂後の *Leptin*, *Ntn1* の発現

本研究において、*leptin* の発現増加が腱板断裂後の疼痛と関連する可能性が示唆された。特に、Adipocytokine signaling pathway の亢進および Axon guidance gene 経路の活性化が確認されたことから、*leptin* が神経系の調節を介して疼痛を引き起こしていると考えられた。

本研究は *leptin* が腱板断裂後の疼痛メカニズムに重要な役割を果たしている可能性を示唆した。今後の研究では、*leptin* や *Ntn1* を標的とした疼痛緩和の新しい治療法の開発が期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1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 Tazawa R, Uchida K, Kenmoku T, Nakawaki M, Muneshige K, Ishii D, Inoue G, Takaso M	4. 巻 16
2. 論文標題 Increasing transforming growth factor-beta concentrations with age decrease apelin in the rat rotator cuff	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Orthop Surg Res	6. 最初と最後の頁 539
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s13018-021-02675-0	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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 田澤 諒、内田健太郎、見目智紀、中脇充章、石井大輔、松本光圭、井上宏介、大貫裕子、井上 玄、高相晶士
2. 発表標題 加齢に伴う腱板TGF- 産生上昇は腱板組織内におけるLeptin発現を誘導する
3. 学会等名 第37回日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田澤 諒、内田 健太郎、見目 智紀、中脇 充章、宗重 響子、石井 大輔、大貫 裕子、井上 玄、高相 晶士
2. 発表標題 加齢に伴う腱板TGF- 産生上昇は抗酸化関連遺伝子の発現を低下させる
3. 学会等名 第36回日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2021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
---------	---------