

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 3 日現在

機関番号：14202

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22500457

研究課題名（和文） 力学的ストレス下における軟骨細胞間応答

研究課題名（英文） Mechanotransduction in Rat Chondrocytes

研究代表者

今井 晋二（SHINJI IMAI）

滋賀医科大学・医学部・准教授

研究者番号：90283556

研究成果の概要（和文）：3次元培養下に軟骨細胞を力学的刺激する IL-4 の発現亢進が起こる事を明らかにした。IL-4 を加えると軟骨細胞に力学的刺激を加えなくても、あたかも力学的刺激が加わったかのように軟骨器質産生能が亢進した。力学的刺激後に IL-4 拮抗薬を投与したところ、アグリカンと II 型コラーゲンの遺伝子発現は共に抑制されることが判明した。一方、力学的刺激すると同時に、各種 MAPK 阻害薬を投与した。p38 MAPK 阻害薬で、力学的刺激に引き続く一連の反応が完全に阻害される事から p38 MAPK が最も関与している、と考えられた。

研究成果の概要（英文）：We first confirmed rapid up-regulation of the putative chondro-protective cytokine, interleukin (IL)-4, as an immediate response to MS. We then studied the role of IL-4 by investigating responses to exogenous IL-4 or a specific IL-4 inhibitor, combined with MS. Next we investigated the intracellular second messengers. Since chondrocyte phenotype alters according to the extracellular environment, we characterized the response to mechanotransduction in 3-dimensionally embedded chondrocytes. Expression of aggrecan and type II collagen was significantly up-regulated by exogenous IL-4 whereas MS-induced matrix synthesis was inhibited by an IL-4 blocker. Further, MS-induced matrix synthesis was completely blocked by a p38 MAPK inhibitor.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2012年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学・リハビリテーション科学・福祉工学

キーワード：軟骨細胞、力学的刺激、細胞間応答、サイトカイン、器質産生能

1. 研究開始当初の背景

関節の軟骨は一旦、損傷されると修復され難く、自らの軟骨での修復が望まれますが、傷んだ軟骨を治す方法は未だ確立されていません。軟骨細胞は本来軟骨組織の中で、力学的刺激下に置かれています。力学的刺激を加えることにより、軟骨器質産生能の再獲得を試みられています。しかし、力学的刺激による軟骨器質産生能の再獲得のメカニズムは依然不明です。

2. 研究の目的

力学的刺激による軟骨器質産生能の再獲得のメカニズムを明らかにすることにより、力学的刺激を加える力学的刺激を加えなくても、軟骨の器質産生能を賦活させる方法の開発を目的としました。

3. 研究の方法

軟骨細胞をコラーゲン器質内に包埋し、三次元的環境を維持した上で力学的刺激を加えると軟骨器質産生能が維持される3次元培養力学的刺激システムを作成した。刺激を受けていない軟骨細胞を同じ装置に同じ培地を用いて装填するだけで細胞が活性化することから、何らかの液性因子が力学的刺激を契機に分泌されていると推察された。これまでの実験で IL-4 が未知の液性因子の少なくとも1つであることが判明した。力学的刺激された軟骨細胞における IL-4 の働きを明らかにする為、IL-4 を負荷した実験群と力学的刺激のみを負荷した実験群でのアグリカン、II 型コラーゲンなどの細胞外器質の遺伝子発現で検討した。力学的刺激は細胞表面上の接着因子を介して伝えられ、細胞内のセカンドメッセンジャーを介して細胞外器質産生能の亢進をきたしていると考えられる。力学的刺激すると同時に、MAPK 阻害薬を投与し、力学的刺激に関与するセカンドメッセンジャーを調べた。

4. 研究成果

IL-4 を加えると軟骨細胞に力学的刺激を加えなくても、あたかも力学的刺激が加わったかのように軟骨器質産生能が亢進した。力学的刺激後に IL-4 拮抗薬を投与したところ、アグリカンと II 型コラーゲンの遺伝子発現は共に抑制されることが判明した。一方、力学的刺激すると同時に、MAPK 阻害薬を投与した。p38 MAPK 阻害薬で、力学的刺激に引き続く一連の反応が完全に阻害される事から p38 MAPK が最も関与している、と考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 14 件)

1. Kumagai K, Imai S, Toyota F, Okumura N, Matsuura H, Matsusue Y. 17 β -Estradiol inhibits the doxorubicin-induced apoptosis via block of volume-sensitive Cl⁻ current in rabbit articular chondrocytes. *Br J Pharmacol*. 116: 702-720. 2012. 査読有
2. Mori K, Imai S, Shimizu J, Taga T, Ishida M, Matsusue Y. Spinal glioblastoma multiforme of the conus medullaris with holocordal and intracranial spread in a child: A case report and review of literature. *The Spine Journal*. 12(1): e1-6, 2012. 査読有
3. Takemura Y, Imai S, Kojima H, Katagi M, Yamakawa I, Kasahara T, Urabe H, Terashima T, Yasuda H, Chan L, Kimura H, Matsusue Y. Brain-derived neurotrophic factor from bone marrow-derived cells promotes post-injury repair of peripheral nerve. *Plos ONE* 7(9): e44592. 2012. 査読有
4. Mimura T, Imai S, Okumura N, Li L, Nishizawa K, Kubo M, Mori K, Matsusue Y. Spatiotemporal Control of Proliferation and Differentiation of Bone Marrow-derived Mesenchymal Stem Cells for Repair of Articular. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 98(B): 360-368, 2011. 査読有
5. Mori K, Imai S, Saruhashi Y, Matsusue Y. Thoracoscopic en-block extirpation for subperiosteal osteoid osteoma of thoracic vertebral body: A rare variety and its therapeutic consideration. *The Spine Journal*. 11(5): e13-18, 2011. 査読有
6. 今井晋二. 軟骨の修復と再生医療 ー当教室に再生医療研究の10年ー 滋賀医大雑誌. 24: 2-8, 2011. 査読無
7. 今井晋二. 骨粗鬆症の診断と治療 ー骨塩定量、骨代謝マーカーそして新たな骨折リスク評価ー. 大津市医師会誌. 34: 69-72, 2011. 査読無
8. 奥村法昭、今井晋二. RA 上肢 : MB *Medical Rehabilitation*. 130: 65-69, 2011. 査読無

9. 今井晋二. 椎間板性疼痛と神経原性疼痛 - 脊柱管内侵害受容神経と慢性疼痛のメカニズム. 大津市医師会誌. 34: 395-400, 2011. 査読無
10. Kasahara T, Imai S, Kojima H, Katagi M, Chan L, Kimura H, Matsusue Y. Malfunction of Bone Marrow Derived Osteoclasts and the Delay of Bone Fracture Healing in Diabetic Mice. *Bone*. 47, 2010. 617-625. 査読有
11. Nishizawa K, Imai S, Mimura T, Kubo M, Araki T, Shioji S, Takemura N, Matsusue Y. In-advance trans-medullary stimulation of the bone marrow enhances spontaneous repair of full-thickness articular cartilage defects in rabbits. *Cell Tissue Res*. 34, 2010, 371-379. 査読有
12. Uenaka K, Imai S, Andou K, Matsusue Y. Low-Intensity Pulsed Ultrasound Promoted Matrix Synthesis of Scaffold-free Cartilage Produced in High Density Static Semi-open Culture System. *J Orthop Sci*. 15, 2010, 816-824. 査読有
13. Mori K, Imai S, Omura K, Saruhashi Y, Matsusue Y, Hukuda S. Clinical output of the rheumatoid cervical spine in patients with mutilating-type joint involvement: For better ADL and longer survival. *Spine*. 35: 1279-1284, 2010. 査読有
14. 今井晋二. 大学内に回復期病棟を開設したい. *臨床リハ*. 19:987-989, 2010. 査読無
- [学会発表] (計 30 件)
1. 今井晋二. 骨粗鬆症治療のコンプライアンスの現状. 骨粗鬆症 up-to-date 講演会. 大津市. 2012. 1. 21
2. 今井晋二. 皮下腱断裂 (脱臼を含む) について. 第 6 回京滋手の外科・末梢神経セミナー. 京都. 2012. 3. 10.
3. 今井晋二. 脊椎骨粗鬆症の診断と治療について. 滋賀県のリハビリテーションを推進する医師の会. 草津市. 2012. 6. 16.
4. 今井晋二 (招待講演). 骨粗鬆症の診断と治療 - 骨塩定量, 骨代謝マーカー, 新たな骨折リスク評価 -. 第 5 回草津栗東・薬薬連携の会. 草津市. 2012. 9. 8.
5. 今井晋二. 肩関節疾患とリハビリテーション - 脳卒中後片麻痺患者の肩関節痛とリハビリテーション. 第 33 回日本リハビリテーション医学会近畿地方会. 大津市. 2012. 9. 15.
6. 今井晋二 (招待講演). 生活習慣病と骨粗鬆症. - 統発診断と治療 -. 大津市薬剤師会. 教育研修講演. 大津市. 2012. 9. 20.
7. 今井晋二. 生活習慣病と骨粗鬆症. - 統発性骨粗鬆症の診断と治療 -. 大津市医師会. 教育研修講演. 大津市. 2012. 11. 22.
8. Ueba H, Imai S, Araki S, Ishigaki H, Nishizawa K, Mimura T, Ogasawara K, Matsusue Y. Spontaneous healing of fibrocartilage at the insertion of rotator cuff and its enhancement by transosseous passageway in animal model of cynomolgus monkey. OARSI World Congress on Osteoarthritis, San Diego, CA. 2011.9.15~18.
9. Araki S, Imai S, Kubo M, Mimura T, Nishizawa K, Ueba H, Matsusue Y. Detailed evaluation of chondral defect repair and autologous bone marrow derived mesenchymal cells transplantation. A nonhuman primate model. OARSI World Congress on Osteoarthritis, San Diego, CA. 2011.9.15~18.
10. Kumagai K, Imai S, Toyoda N, Okumura N, Isoya E, Matsuura H, Matsusue Y. 17 β -estradiol inhibits the doxorubicin-induced activation of volume-sensitive Cl⁻ current in isolated rabbit articular chondrocytes. OARSI World Congress on Osteoarthritis, San Diego, CA. 2011.9.15~18.
11. Shioji S, Imai S, Ando K, Matsusue Y. Effect of mechanical stress or its combination with MAPK inhibitor on the chondrocytic phenotype of 3-dimensional scaffold-embedded rat chondrocytes. OARSI World Congress on Osteoarthritis, San Diego, CA. 2011.9.15~18.
12. 今井晋二. 骨粗鬆症の診断と治療 - 骨塩定量, 骨代謝マーカー, そして新たな骨折リスク評価 -. 日本リウマチ財団教育研修講演. 大津市. 2011. 1. 16.
13. 今井晋二. 椎間板性疼痛と神経原性疼痛 - 脊椎侵害受容神経と慢性疼痛のメカニズム -. 大津市医師会学術講演会. 大津市. 2011. 5. 21.
14. 今井晋二. 骨代謝障害 その診断と治療 について - ビタミン D 製剤 などの骨代謝治療薬の効果 -. 大津市医師会学術講演

- 会. 大津市. 2011. 9. 24.
15. 今井晋二. 骨粗鬆症の診断と治療 -骨塩定量、骨代謝マーカー、骨折リスク評価-. 第 115 回滋賀県薬剤師会湖北東支部研修会. 彦根市. 2011. 11. 9.
 16. Kumagai K, Imai S, Toyoda F, Okumura N, Isoya E, Matsuura H, Matsusue Y. 17 β -estradiol inhibits the doxorubicin-induced activation of volume-sensitive Cl⁻ current in isolated rabbit articular chondrocytes. 第 87 回日本生理学会総会. 盛岡市. 2010.5.19~21.
 17. Kikuchi K, Imai S, Kawasaki T, Saruhashi Y, Mori K, Isoya E, Okumura N, Kodama N, Kubo M, Mimura T, Yamaoka H, Matsusue Y. Clinical benefit of a Japanese convalescent rehabilitation ward on patients with rheumatoid arthritis is not only recovery of ADL, but also improvement of QOL. 14th Congress of Asia Pacific League of Associations for Rheumatology. Hong Kong. 2010.7.11~15.
 18. Kubo M, Imai S, Mimura T, Nishizawa K, Araki S, Kitamura H, Noda K, Hirakura Y, Matsusue Y. Articular cartilage repair by novel CCK2/gastrin receptor antagonist "AG-041R" using drug delivery system. ICRS 2010 (International Cartilage Repair Society). Sitges/Barcelona, Spain. 2010.9.26~29.
 19. Uenaka K, Imai S, Matsusue Y. The effect of low-intensity pulsed ultrasound on scaffold-free chondrocyte plate in rabbit model. Sitges/Barcelona, Spain. 2010.9.26~29
 20. Araki S, Imai S, Kubo M, Mimura T, Nishizawa K, Ueba H, Matsusue Y. Detailed evaluation of autologous bone marrow-derived mesenchymal cells transplantation in cynomolgus monkeys. Sitges/Barcelona, Spain. 2010.9.26~29.
 21. Nishizawa K, Imai S, Mimura T, Kubo M, Araki S, Matsusue Y. Advance trans-medullary stimulation of mesenchymal stem cells enhances spontaneous repair of full-thickness articular cartilage defects. Sitges/Barcelona, Spain. 2010.9.26~29.
 22. Kumagai K, Imai S, Toyoda F, Okumura N, Isoya E, Matsuura H, Matsusue Y. 17 β -estradiol inhibits the activation of volume-sensitive Cl⁻ current by doxorubicin in isolated rabbit articular chondrocytes. Sitges/Barcelona, Spain. 2010.9.26~29.
 23. Takemura Y, Imai S. Osteocyte-derived HB-GAM (pleiotrophin) is associated with bone formation and mechanical loading. Sitges/Barcelona, Spain. 2010.9.26~29.
 24. Ueba H, Imai S. Healing process of the fibrocartilaginous insertion of a supraspinatus tendon tear in primates. Sitges/Barcelona, Spain. 2010.9.26~29.
 25. Shioji S, Imai S. Effect of mechanical stress or Interleukin-4 on cartilage-specific gene expressions of rat chondrocytes in 3-D scaffold. Sitges/Barcelona, Spain. 2010.9.26~29.
 26. 今井晋二. 脊椎骨粗鬆症治療の実際 彦根市医師会学術講演会. -骨量測定と骨代謝マーカーの種類と使い分け-. 彦根市医師会学術講演会. 彦根市. 2010. 4. 24.
 27. 今井晋二(招待講演). 五十肩と肩コリ. 大津市民公開講座 (大津市医師会共催). 腰・肩・膝の痛みについて. 大津市. 2010. 6. 5.
 28. 今井晋二. 骨粗鬆症の診断と治療 -骨塩定量、骨代謝マーカー、そして新たな骨折リスク評価-. 骨粗鬆症セミナー. 大津市. 2010. 8. 28.
 29. 今井晋二. 脊椎骨粗鬆症治療の実際 -骨量測定と骨代謝マーカーの種類と使い分け-. 大津市医師会学術講演会. 大津市. 2010. 12. 25.
 30. Kumagai K, Toyoda F, Okumura N, Isoya E, Imai S, Matsusue Y, Matsuura H. Activation of volume-sensitive Cl⁻ current by doxorubicin in isolated rabbit articular chondrocytes. Osteoarthritis Reseach Society International World Congress on Osteoarthritis 2009. 2009.9.10~13, Montreal, Canada.
- [図書] (計 2 件)
1. 菊地克久、今井晋二. 長井書店. 骨粗鬆症の新しい治療薬: リウマチ病セミナー XXI (七川欽次監修) 120-128, 2010.
 2. 奥村法昭、今井晋二. 長井書店. 骨折リスクの評価: リウマチ病セミナー XXI (七川欽次監修), 大阪, 137-144, 2010.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

今井 晋二 (IMAI SHINJI)

滋賀医科大学・医学部・准教授

研究者番号：90283556

(2) 研究分担者

松末 吉隆 (MATSUSUE YOSHITAKA)

滋賀医科大学・医学部・教授

研究者番号：30209548