

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 10 月 5 日現在

機関番号：24601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24592276

研究課題名(和文) 腱・靭帯附着部症に対する神経要素の動態とヒアルロン酸の治療効果に関する研究

研究課題名(英文) The expression of nerve elements and the effect of hyaluronic acid for the injury of the enthesis

研究代表者

熊井 司 (Kumai, Tsukasa)

奈良県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：40382288

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：腱・靭帯の骨への附着部(enthesis)の障害の病態を明らかにするために神経および血管の要素(疼痛などの症状や損傷に対する修復反応の要素)が附着部周囲にある滑膜性脂肪組織内に存在することが分かった。本研究では、損傷時に血管は強く反応するが、神経要素が強く反応するかは明らかにはできなかった。その損傷部位にヒアルロン酸を投与すると、非投与群と比較して、損傷に対する修復反応がより速やかに起こる(促進作用)ことが分かった。

研究成果の概要(英文)：To clarify the pathogenesis of the injury of the attachment of the tendon/ligament (i.e. enthesis), we investigated the nerve elements and angiogenesis, which might cause some symptoms, such as pain, and the repair reaction. We demonstrated that they were present at synovial adipose tissue around the enthesis (i.e. enthesis organ). In this study, Although the blood vessels increase strongly after the injury of the enthesis, it was unable to clear whether nerve elements react strongly. The administration of hyaluronic acid to the injury site of the enthesis, compared to the non-administration group, it was found that the repair response to injury occurs more rapidly (promoting action).

研究分野：整形外科、スポーツ医学

キーワード：enthesis neural element enthesis organ neuropeptide hyaluronic acid

1. 研究開始当初の背景

(1) 運動器の中でも腱・靭帯骨附着部における障害は“ enthesopathy ”と呼ばれており、退行性変化による損傷および障害、外傷など外部エネルギーによる損傷、同部位をターゲットにした全身性疾患による障害などがあり、今日における整形外科あるいはスポーツ医学においては使いすぎ症候群 (overuse syndrome) の大きな要因として注目すべき疾患となりつつある。これまで腱・靭帯骨附着部に関する研究は、主として解剖学分野においてその構造や機能について詳細に研究されてきている。しかし、そこで起こっている病理や障害の病態、治療に関する臨床面での研究は少なく、実際の臨床の場において腱・靭帯骨附着部障害の患者にどのような変化が起こっているのかを想像することは難しい。このことは病態の過程に応じた最適な治療法の選択をより困難なものとしており、治療経過における効果予測の大きな障害となっている。腱・靭帯骨附着部障害の病態を解明していく上で、臨床上、enthesopathyとして最も多くみられる症候である「疼痛」に対するアプローチについてはこれまで全く行われていない。こういった背景のもと、腱・靭帯骨附着部における神経要素の局在と特徴を明らかにし、障害発症および修復過程での神経要素の挙動について明確にすることは、enthesopathy に対する治療法の確立に重要な情報となるものと考えた。

2. 研究の目的

整形外科、特にスポーツ医学における主な障害部位の一つである腱・靭帯骨附着部 (enthesis) の障害 (enthesopathy) における症状発現のメカニズムや損傷に対する修復反応について検討を行うことを目的とする。本研究では“ enthesis organ ”内の神経要素を同定し、その動態を明らかにするとともに、新しい治療法としてのヒアルロン酸の有効性を評価するための基礎的実験を行うことを本研究の目的とした。

3. 研究の方法

ラットおよび家兔の肩腱板 (棘下筋腱) 膝 (膝蓋靭帯) および足関節 (アキレス腱) の腱・靭帯骨附着部に部分微小損傷を作製し (腱・靭帯骨附着部損傷モデル) 初期反応 (炎症反応) および修復反応の過程における enthesis および滑膜性脂肪組織を中心とした周囲組織 (enthesis organ) において発現する神経要素および神経ペプチドを分子生物学的レベルおよび RNA レベルで同定し、その動態を観察する。同損傷モデルに対し、ヒアルロン酸投与後の滑膜性脂肪組織における神経要素、神経ペプチドの変化についても観察を行う。

4. 研究成果

家兔の幼若固体と成熟固体における神経要素の局在の観察と比較を行う予定であったが比較し差異を得ることが困難であり、予想した結果が確認できなかった。

(1) 様々な術後切除標本での神経・血管要素の観察を行った。身体各部位の enthesis に対して施行した手術時に切除した標本を用いて、神経要素 (PGP9.5, substance P, neurofilament, CD56) および新生血管 (CGRP) を免疫組織学的に観察し評価したところ、全ての要素において、enthesis そのものではなく、その周囲にある滑膜性脂肪組織、結合組織、脂肪体内に局在を認めることができた (図1)。

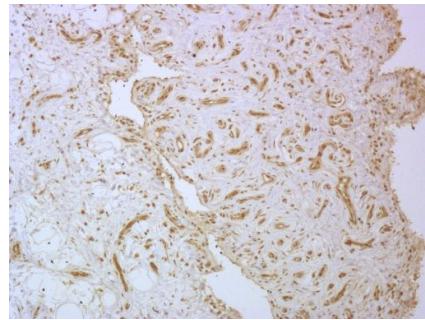


図1: アキレス腱附着部の脂肪体 (術後切除標本) substance-P の著明な局在が確認できる。

(2) 腱・靭帯骨附着部損傷モデルの修復過程の組織学的観察を行った。附着部損傷モデルは過去の論文を参考にし、性格に損傷が作製できた家兔の肩棘下筋腱上腕骨附着部で行うことにした。損傷における自然修復反応を組織学的に確認したところ、附着部の近傍にある肩峰下滑液包内において新生血管および未分化間葉系細胞の増生がまず起こり、その増生した血管および細胞が欠損部に進入し、欠損を充填したところで、損傷断端部から血管および細胞が腱線維間に侵入する (図2, 3)。十分に欠損部と両断端の連続性が整った後、血管成分は消失し、細胞成分は適度に間引かれ、線維芽細胞へと分化し、膠原線維の連続性、配向性が確立され、12週以降で正常組織へと修復されることが分かった。

(3) 腱・靭帯骨附着部損傷モデルに対するヒアルロン酸投与の効果の検討を行った。実験(2)と同様の家兔肩棘下筋腱附着部欠損モデルを使用し、修復反応の主器官であった肩峰下滑液包に高分子ヒアルロン酸 (分子量180万) 0.5ml を投与した (HA群)。コントロール群として同様の欠損に対し生理的食塩水0.5ml を投与した。標本採取は2, 4, 8, 12週で行い、組織学的検討を行った。ヒアルロン酸投与群 (HA群) はコントロール群と比較して、より著明に新生血管および未分化間葉系細胞の増生が認められ、コ

ントロール群よりも早期に欠損部への進入、充填、断端部への侵入が起こり、線維芽細胞へと分化し、膠原線維の連続性、配向性がより速やかに起こっていることが分かった(図4)。炎症反応および修復反応をスコアリングし、グラフ化した(図5, 6)。上記(1)~(3)に関しては、国内外の学会にて発表し、現在論文を作成している。

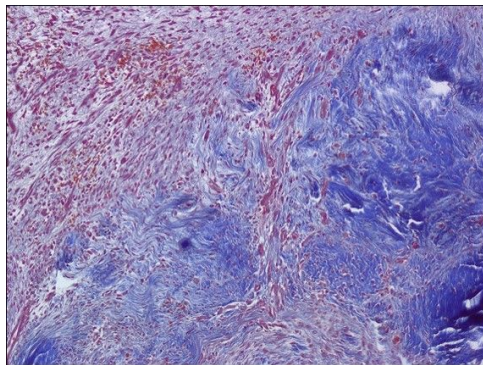


図2：家兎肩棘下筋附着部損傷後の修復過程 肩峰下滑液包内の血管・細胞の増生が認められる。マッソントリクローム染色

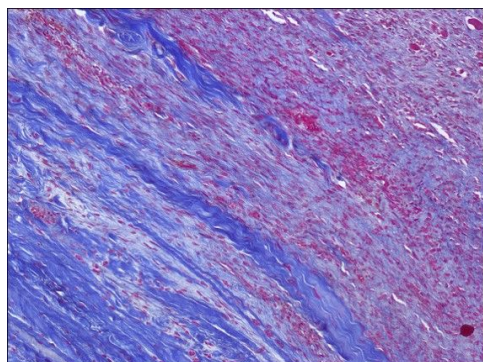


図3：家兎肩棘下筋附着部損傷後の修復過程 増生した血管・細胞が欠損部に進入(2週)。マッソントリクローム染色

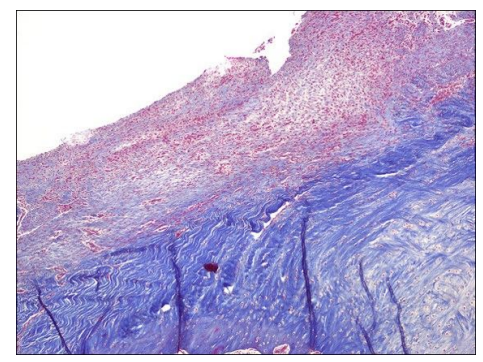


図4：家兎肩棘下筋附着部損傷後の修復過程 HA群 増生した血管・細胞が欠損部に進入している(2週)。マッソントリクローム染色

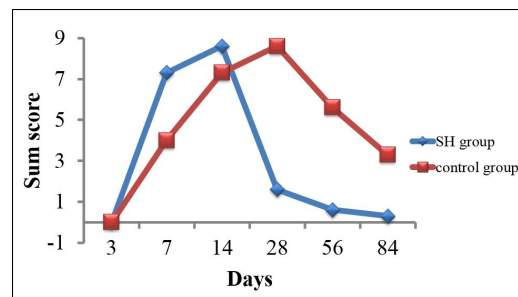


図5：家兎肩棘下筋附着部損傷に対する効果(炎症反応)HA群：青 コントロール群：赤 コントロール群(赤)と比較してHA群(青)はより早期に炎症反応が起こり、早期に消退している。

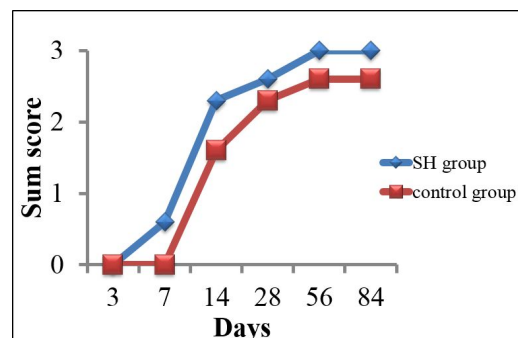


図6：家兎肩棘下筋附着部損傷に対する効果(修復反応)HA群：青 コントロール群：赤 コントロール群(赤)と比較してHA群(青)はより速やかに修復反応が進行している。

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6件)

Kumai T, Muneta T, Tsuchiya A, Shiraishi M, Ishizaki Y, Sugimoto K, Samoto N, Isomoto S, Tanaka Y, Takakura Y. The short-term effect after a single injection of high-molecular-weight hyaluronic acid in patients with enthesopathies (lateral epicondylitis, patellar tendinopathy, insertional Achilles tendinopathy, and plantar fasciitis): a preliminary study. J Orthop Sci. 査読有, Jul;19(4). 2014. pp.603-611. doi: 10.1007/s00776-014-0579-2.

Shinohara Y, Kumai T, Higashiyama I, Hayashi K, Matsuda T, Tanaka Y, Takakura Y. Histological and molecular characterization of the femoral attachment of the human ligamentum capitis femoris. Scand J Med Sci Sports. 査読有, Aug;24(4).2014. pp.e245-253.

doi: 10.1111/sms.12155.

Hashiuchi T, Sakurai G, Takakura Y, Inoue K, Kumai T, Tanaka Y. Superficial blood flow of the superior labrum associated with rotator cuff tear using laser Doppler flowmeter. J Orthop Sci. 査読有、May;19(3). 2014.242-248. doi: 10.1007/s00776-014-0539-x.

Shinohara Y, Kumai T, Higashiyama I, Tanaka Y, Takakura Y, Nishi M, Azuma C, Minami T, Tohno Y. Differences in elements between intact and disrupted human ligamenta capitum femorum. Biol Trace Elem Res. 査読有、Aug;160(2). 2014. 161-168. doi: 10.1007/s12011-014-0036-2.

〔学会発表〕(計 50 件)

熊井 司、足部・足関節のオーバーユーズ障害の病態と治療、第 10 回関東足の外科研究会(招待講演)、2013 年 1 月 19 日、東京

熊井 司、田中康仁、上腕骨外側上顆炎 - 難治例を考える上での疫学、病態について - 、日本肘関節学会(招待講演)、2013 年 2 月 8~9 日、東京都

熊井 司、サッカーとフットサルにおける足関節・アキレス腱障害について、第 5 回 Futsal Trainer Seminar(招待講演)、2014 年 4 月 20 日、東京都

Shinohara Y, Kumai T, Higashiyama I, Tanaka Y. Differences in Elements Between Intact and Disrupted Human Ligamenta Capitum Femorum. The 2015 Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society. 2015/3/28~ 3/31. Las Vegas, USA .

〔図書〕(計 5 件)

熊井 司、総合医学社、運動器診療 最新ガイドライン、2012 年、715-718

熊井 司、南山堂、アキレス腱付着部障害 ここまでできる 足の鏡視下手術オリエンテーション、2014 年、153

熊井 司、南山堂、腱・靭帯の特徴と診かた ベッドサイドの高齢者運動器の診かた、2014 年、431

篠原靖司、熊井 司、医歯薬出版株式会社、Enthesis 障害のリハビリテーションの注意点 種目別にみるスポーツ外傷・障害のリハビリテーション、2014 年、193

篠原靖司、熊井 司、全日本出版協会、

腱・靭帯付着部の微細構造 よくわかる野球肘 肘の内側部障害 - 病態と対応 - 、2016 年、352

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

熊井 司 (KUMAI Tsukasa)

奈良県立医科大学 医学部・教授

研究者番号: 4 0 3 8 2 2 8 8

(2) 研究分担者

田中 康仁 (TANAKA Yasuhiro)

奈良県立医科大学 医学部・教授

研究者番号: 3 0 3 1 6 0 7 0