

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 10 月 13 日現在

機関番号：22401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26560279

研究課題名(和文) 成長期骨軟骨疾患の発症要因を探索し検証する-新たな運動療法の確立へ向けて-

研究課題名(英文) To elucidate the mechanism of bone and cartilage disease in growth phase

研究代表者

国分 貴徳 (Kokubun, Takanori)

埼玉県立大学・保健医療福祉学部・助教

研究者番号：10616395

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、実験動物を対象とした基礎的な解析からは、運動をある程度まで定量化して系を組むことで、遠心性収縮が増加するとされる下り坂走行群で石灰化線維軟骨層の割合が他の群と比較し増大していたことから、単純なoveruseのみでなく、メカニカルストレスの特異性が成長期骨軟骨疾患の発症に影響している可能性が示された。一方、ヒトを対象としたバイオメカニクス研究の結果から、姿勢の変化に伴うモーメントの変化に、身体の反応としての筋活動が線形に変化しないことを表しており、このメカニカルストレスと身体の反応である筋活動との不一致が、成長期骨軟骨疾患の発症に関連している可能性が考えられた。

研究成果の概要(英文)：In this study, The group of eccentric contraction with down-hill running indicated an increase of calcified fibrocartilage zone compared to other exercise groups in animal experiment. These results suggested the factors of bone and cartilage disease in growth phase were affected by specificity of mechanical stress not primitive overuse. From the biomechanical studies, although increasing of the knee moment affected by trunk alignment, muscle activities were not changed in lineary. These results suggested that the inconsistency of mechanical stress and muscle activities related to the mechanism of bone-cartilage disease in growth phase. Our results explained eccentric contraction may induce the inflammation of bone insertion site.

研究分野：リハビリテーション

キーワード：エンターシス メカニカルストレス モーメント 成長期骨軟骨疾患

1. 研究開始当初の背景

膝関節に発症する Osgood-Schlatter 病に代表される成長期の骨軟骨炎は、荷重関節の筋腱複合体が骨に接合する部位(Enthesis 部)で発症し、臨床上罹患患者は非常に多い。その発症要因としては、罹患部に付着する大腿四頭筋の Overuse (過剰使用)による筋 stiffness の上昇(Jacob RP et al. JBJS-B 1981)、すなわち罹患部におけるメカニカルストレスの増大という外的要因と、成長速度曲線における Grow Spurt 期 (11~14 歳)で Enthesis 部の力学的脆弱化 (Ogden IA et al. Anat Rec 1975)、すなわち付着部の強度低下という内的要因の 2 つが挙げられている。

これに対する治療法としては、当該筋のストレッチを主とした保存療法である。以上の内容は医療従事者に限らず広く一般にも認知され、現状における臨床場面においても一般的に行われている。

しかし、膝関節周囲に発症する成長期の骨軟骨疾患において、上述の要因によって発症しうる疾患は、Osgood-Schlatter 病のみではなく、膝蓋骨の下端に発症する Sinding-Larsen-Johansson 病や、膝蓋骨上端に発症する有痛性分離膝蓋骨など、複数存在する。これら関連疾患との発症要因の違いは、未解明のままである。

2. 研究の目的

本研究は、発症要因からその治療法に至るまで、既に確立した感のある成長期の骨軟骨炎に関して、単純なメカニカルストレスの増大という視点ではなく、メカニカルストレスの特異性という新たな視点から発症要因を探索するものである。そのため、本研究では、成長期の骨軟骨炎の発症要因とその治療法に関して、現状の単なるメカニカルストレスの増大という視点ではなく、その上記の各疾患を引き起こすメカニカルストレスの特異性という観点から、実験動物を対象とした探索的研究とヒトを対象としたバイオメカニクス研究による検証という異なる分野の研究を 2 段階で実施し、膝関節周囲の成長期骨軟骨疾患に対する治療法および予防法の基礎となる提示する事が本研究の目的であった。

3. 研究の方法

本研究計画は、実験動物を対象とした基礎的研究とヒトを対象としたバイオメカニクス研究という異なる 2 つの実験系を実施したため、それぞれを分けて方法及びその成果を記載する。なお、本研究内容は埼玉県立大学動物実験倫理委員会および埼玉県立大学研究倫理委員会の承認を得た上で実施した。

実験 1

〈実験動物を対象とした基礎的探索研究〉

Wistar 系雄性 Rat 4 週齢を対象とし、①通常飼育群、②水平走行群、③上方走行群、④下方走行群に振り分けた。小動物用トレッドミルにて、速度 9m/分 で 5 分走行による準備運動の後、速度を 18m/分に上げ、60 分/日走行させた。傾斜角度は、上方・下方走行ともに 16° と設定し、この運動を 5 日/週で 4 週間継続した。上記の運動負荷に関しては、いくつかの先行研究を参考に、本研究目的に合致する負荷量を設定した。なお、運動介入時以外の時間においては、全群行動を制限せず、水および飼料は自由摂取とした。

介入終了直後、麻酔下にて肩関節 (棘上筋の Enthesis を含む) を採取し、4%PFA にて固定、10%EDTA にて脱灰処置後、凍結包埋により組織ブロックを作製した。クリオスタット CM3050S (LEICA microsystems) を使用し、14 μ の切片を各サンプル毎に 45 スライド程度作成、Toluidine Blue 染色にて染色 (Fig. 1 a) した。染色したスライドから、サンプルに対し 1 スライドをランダムに選定し、画像解析ソフト WinROOF Ver7.0 (MITANI CORPORATION) を使用し、線維軟骨層 (Fibrocartilage; FC) と石灰化軟骨層 (Calcified Fibrocartilage; CFC) の面積を計測した (Fig. 1 b~d)。Enthesis における各層の境界は、先行研究 (Kanazawa, 2015)) に基づき細胞形状から断定した。計測された各層部の面積から、FC に対する CFC の割合 (CFC/FC \times 100) の平均値と標準偏差を算出し、各群間における運動介入の違いによる影響を考察した。

統計解析には SPSS を使用し、一元配置分散分析と、下位検定は Turkey 法による多重比較 (有意水準は 5%未満) を行った。

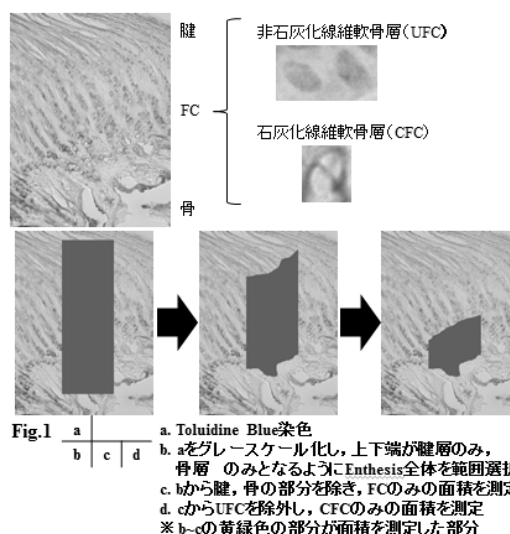


Fig.1 組織像の解析方法

実験 2

〈ヒトを対象としたバイオメカニクス研究〉

健康大学生を対象とし、体幹の前傾角度を変化させた状態でスクワット動作を行わせた。開始肢位は床反力計の上で腹部外側を保持した股関節内外転0度、足部平行の開脚立位とした。被験者にスクワット動作を①通常（体幹は下腿の前傾と平行移動させる）、②体幹垂直、③体幹前傾（垂直軸から80度）の3条件に対して各3回、計9回実施した。なお、各条件がランダムに選択されるよう乱数表を用いて実施し、疲労の影響が出現しないように十分な休憩を取った。スクワット動作は膝関節屈曲60度までとし、実験は被験者に各体幹条件のスクワット動作を十分に練習してもらった後に実施した。

動作中の運動学的・運動力学的データを赤外線カメラ17台と三次元動作解析装置(VICON社)、床反力計(Kistler社)、表面筋電図計(DELSYS社)を使用し計測した。被験筋は、脊柱起立筋・大殿筋・中殿筋・大腿筋膜張筋・半腱様筋・大腿二頭筋・外側広筋・内側広筋・大腿直筋・内転筋・腓腹筋内側頭・腓腹筋外側頭・ヒラメ筋・前脛骨筋のすべて右側の被験筋14筋を選択し、皮膚処理後、表面電極を貼付した。三次元動作解析に使用するマーカセットはPlug-In Gait Fullbody AI modelに従い、全身39箇所14mmの赤外線反射マーカを貼付した。

計測されたデータから、膝関節周りのモーメントとそれに関連する筋群の活動を定量化し、その関係について検討した。

4. 研究成果

実験 1

〈実験動物を対象とした基礎的探索研究〉

染色像の巨視的観察位においては、各群におけるEnthesis部の構造について顕著な差は見られなかった(Fig. 2)。

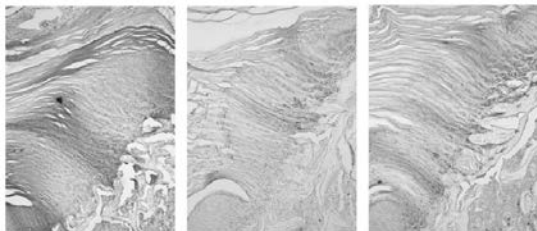


Fig.2 各群の組織像(左から順にLevel群, Up群, Down群)

一方、線維軟骨層の各層面積を計測し、その比率を群間で比較した結果からは、Up群, Level群, Down群の順にFCにおけるCFCの割合が増加する傾向がみられたが、群間における統計学的な有意差はみられなかった(Fig. 3)。

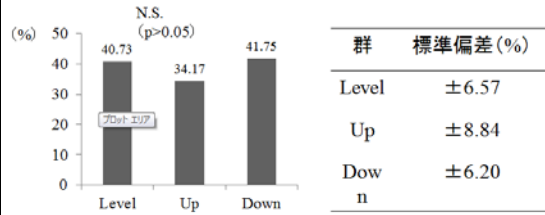


Fig.3 FCにおけるCFCの割合の平均値と標準偏差

実験 2

〈ヒトを対象としたバイオメカニクス研究〉

通常の条件と比較して、体幹 up right 条件では、股関節まわりのモーメントは伸展となり、膝関節まわりの屈曲モーメントは増大した。一方、体幹の前傾条件では、股関節の屈曲まわりのモーメントが増大する一方で、膝関節周りのモーメントは伸展となった(Fig. 4)。

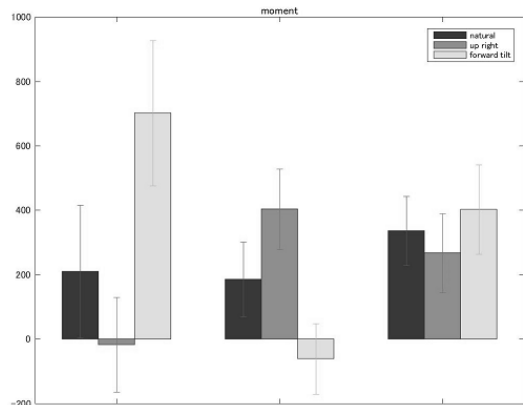


Fig.4 各関節のモーメント

上記のように、体幹の角度条件により股関節および膝関節周りのモーメントがダイナミックに変化する一方で、各筋群の活動は微細な変化にとどまっていた(Fig. 5)。

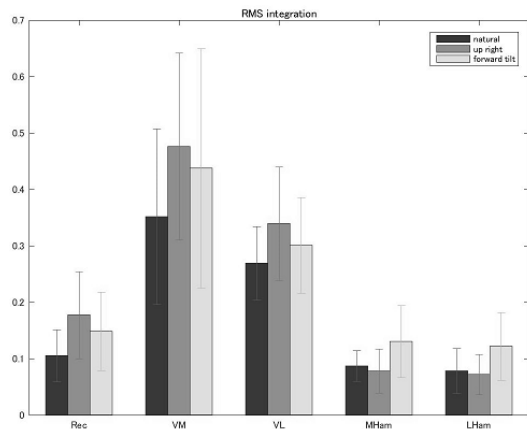


Fig.5 各筋の活動量

<総括>

本研究は、成長期の骨軟骨疾患の発症要因を解明すべく、実験動物による基礎的解析とヒトを対象としたバイオメカニクス研究を実施した。

実験動物を対象とした基礎的な解析からは、運動をある程度まで定量化して系を組むことで、メカニカルストレスの特異性が同疾患の発症に至るメカニズムの解明を試みた。結果として、遠心性収縮が増加するとされる下り坂走行群で石灰化線維軟骨層の割合が他の群と比較し増大していたことから、単純な overuse のみでなく、メカニカルストレスの特異性が成長期骨軟骨疾患の発症に影響している可能性が示された。

一方、ヒトを対象としたバイオメカニクス研究の結果から、スクワットのような膝関節に大きな負荷をかける動作において、体幹の前傾角度が各関節まわりのモーメントに大きく影響していることが示された。しかし、それに伴う関連筋群の筋活動では、関節まわりのモーメントのダイナミックな変化に比べ、その変化量は微細な変化にとどまっていた。この結果は、姿勢の変化に伴うモーメントの変化に、身体の反応としての筋活動が線形に変化しないことを表しており、このメカニカルストレスと身体の反応である筋活動との不一致が、成長期骨軟骨疾患の発症に関連している可能性が考えられた。

本研究計画では、成長期骨軟骨疾患の発症要因を完全に解明するには至っていないが、本研究計画のように、実験動物を対象としたメカニカルストレスの基礎的影響の解析とヒトを対象としたメカニカルストレスとそれに対する身体の反応解析を行っていくことで、発症要因を解明することに繋がる可能性が示された。

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 2 件)

- (1) Kokubun T, Kanemura N, Murata K, Moriyama H, Morita S, Jinno T, Ihara H, Takayanagi K. Effect of Changing the Joint Kinematics of Knees With a Ruptured Anterior Cruciate Ligament on the Molecular Biological Responses and Spontaneous Healing in a Rat Model. *Am J Sport Med.* 2016(in press)
- (2) Murata K, Kanemura N, Kokubun T, Fujino T, Matsumoto J, Yasui K, Takayanagi K. Age-related changes in collagen degeneration of the rotator cuff in an animal model. *Am J Biomed Life Sci.* 2014; 2(6), pp156-162

[学会発表] (計 16 件)

- (1) 黒尾元基, 国分貴徳, 村田健児, 金村尚彦. 筋収縮様式の違いによるメカニカルストレスの変化が Enthesis (腱付着部) に及ぼす影響. 第 51 回日本理学療法学会大会, 2016 年 5 月, 札幌市
- (2) 萩台保之, 国分貴徳, 三井直人, 金村尚彦, 高柳清美. ラット ACL 完全損傷モデルでは、外側半月板の変性が変形性膝関節症の誘因となり得るのか. 第 51 回日本理学療法学会大会, 2016 年 5 月, 札幌市
- (3) 三井直人, 国分貴徳. 異常運動の制動が関節内における軟骨破壊因子の発現に及ぼす影響. 第 51 回日本理学療法学会大会, 2016 年 5 月, 札幌市
- (4) Kokubun T, Kanemura N, Murata K, Moriyama H, Morita S, Jinno T, Ihara H, Takayanagi K. Controlled abnormal joint motion in a rat anterior cruciate ligament complete transection model leads to spontaneous healing through the mechanotransduction mechanism. *Orthopaedic Research Society Annual Meeting.* 2016. 3, Orland, United States.
- (5) Kokubun T, Kanemura N, Murata K, Morita S, Jinno T, Ihara H, Takayanagi K. Mechanotransduction in anterior cruciate ligament spontaneous healing. 9th ISPRM world congress. 2015. 6. Berlin, Germany.
- (6) Kuroo M, Kokubun T. Specific contraction types induce different responses in skeletal muscle and tendons in rat. 9th ISPRM world congress. 2015. 6. Berlin, Germany.
- (7) Murata K, Kokubun T, Morishita Y, Fujino T, Takayanagi K, Kanemura N. Study of the Effect of Joint Stability on Articular Cartilage and Biomarkers Using the Rat Osteoarthritis Model. 9th ISPRM world congress. 2015. 6. Berlin, Germany.
- (8) Kubota K, Marumo T, Fujino T, Kokubun T, Sonoo M, Kanemura N. Squat Movement Differences between the Young and the Elderly. 9th ISPRM world congress. 2015. 6. Berlin, Germany.
- (9) Sonoo M, Hanawa H, Fujino T, Kokubun T, Kubota K, Marumo T, Kanemura N. Characteristic Differences in the Upper Body Behavior between Young Adults and the Elderly. 9th ISPRM world congress. 2015. 6. Berlin, Germany.
- (10) Marumo T, Kanemura N, Yamashita H, Shirogane S, Kokubun T, Fujino T, Hanawa H, Takayanagi K. The Influence of Interaction Torque Squatting in the Elderly. 9th ISPRM world congress. 2015. 6. Berlin, Germany.
- (11) Kanemura N, Imagita H, Takemoto H, Murata K, Kokubun T, Fujino T, Moriyama

H, Takayanagi K. Effect of Balance Exercise Training on Neuromuscular Function after Peripheral Nerve Injury of Adult Rats. 9th ISPRM world congress. 2015.6. Berlin, Germany.

- (12) Morishita Y, Kanemura N, Kokubun T, Murata K, Takayanagi K. The Effect of Restricting Anterior Displacement of the Tibia after Anterior Cruciate Ligament Injury. 9th ISPRM world congress. 2015.6. Berlin, Germany.
- (13) Uemura Y, Kokubun T. Evaluation of the Acute Effects of Gait Disorders in Parkinson's Disease Following Home Physical Therapy Using Wireless Motion Sensors. 9th ISPRM world congress. 2015.6. Berlin, Germany.
- (14) Murata K, Kokubun T, Morishita Y, Fujino T, Takayanagi K, Kanemura N. Influence of knee joint stability and instability in anterior cruciate ligament injury. 第50回日本理学療法学会大会, 2015.5, 東京都
- (15) Mitsui N, Kokubun T, Kanemura N, Murata K, Kanemura N, Takayanagi K. Controlling the abnormal movement prevent the progression of knee osteoarthritis. OARSI World Congress 2015.4, Seattle, United States.
- (16) 黒尾元基, 国分貴徳, 金村尚彦, 村田健児, 高柳清美. 異なる筋収縮様式により骨格筋の筋腱複合体に及ぼす影響に違いが生じるか? 第33回関東甲信越ブロック理学療法学会、千葉市

[図書] (計 1 件)

- (1) 国分貴徳、※膝靭帯・半月板損傷の病態；運動器疾患の病態と理学療法. 医歯薬出版株式会社、2015. pp148-157

[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

<http://www.spu.ac.jp/view.rbz?cd=2306>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

国分 貴徳 (KOKUBUN TAKANORI)
埼玉県立大学・保健医療福祉学部・助教
研究者番号：10616395

(2) 研究分担者

金村 尚彦 (KANEMURA NAHIKO)
埼玉県立大学・保健医療福祉学部・教授
研究者番号：20379895

白銀 暁 (SHIROGANE SATOSHI)

国立障害者リハビリテーションセンター
(研究所)・福祉機器臨床評価研究室・室長

研究者番号：90404764