

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 20 日現在

機関番号：82404

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04966

研究課題名(和文) 関節拘縮発生におけるメカノセンシングシグナルの機能解析に関する研究

研究課題名(英文) Role of Mechano-Sensing Signals in the Pathogenesis of Joint Contracture

研究代表者

中村 耕三 (Nakamura, Kozo)

国立障害者リハビリテーションセンター(研究所)・研究所・顧問

研究者番号：60126133

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 11,900,000円

研究成果の概要(和文)：身体不活動マウスモデルとして後肢不動化を行い、不動化により萎縮した筋を組織学的に検討したところ、炎症性物質の発現促進が特にマクロファージにおいて顕著に認められた。また、運動時の筋内圧変化を再現する局所的圧迫を下腿の体表面から加えたところ、不動による筋萎縮も炎症性物質の発現促進も抑制された。マクロファージを枯渇させる薬剤を投与したマウスでは、不動化による筋萎縮も炎症性物質の発現促進も局所的圧迫の効果も認められなかった。以上の実験結果は、メカニカルストレスによる介入にて局所のマクロファージの活性を抑制すれば、身体不活動による筋萎縮を抑制できることを示唆する。

研究成果の概要(英文)：We have found that massage-like mechanical interventions modulate immobilization-induced pro-inflammatory responses of macrophages in situ and alleviate muscle atrophy. Local cyclical compression (LCC) on mouse calves, which generates intramuscular pressure waves with amplitude of 50 mmHg, partially restores the thickness of calf muscle fibers, which is decreased by hindlimb immobilization using spiral wiring. LCC tempers the increases in the number of macrophage and the expressions of pro-inflammatory proteins in situ. The reversing effect of LCC on immobilization-induced thinning of muscle fibers is almost completely nullified when phagocytic macrophages are depleted. These results suggest that mechanical modulation of macrophage function is involved in physical inactivity-induced muscle atrophy and inflammation. Our findings may open a new path to develop a novel therapeutic or preventative strategy against disuse muscle atrophy, utilizing mechanical interventions.

研究分野：整形外科

キーワード：身体不活動 ロコモティブシンドローム メカニカルストレス 筋萎縮

1. 研究開始当初の背景

(1) 関節拘縮は四肢の一定期間の不動化の結果として生じ、その原因は外傷後の固定、廃用性症候群、神経麻痺、結合組織異常など多岐にわたる。関節は運動器の一部としてその可動性によって体を支える骨格に動きをもたらし、起立・歩行を中心とする移動機能の不可欠な要素を担っているため、拘縮による関節可動性の低下は移動機能低下(ロコモティブシンドローム)の一因として位置づけられる。運動器の健康維持は健康寿命の延伸を掲げる「健康日本21」の目標の一つとなっておりと同時に、その研究推進の重要性は日本学術会議からも提言されている(2014年)。したがって、関節拘縮に対するより良い治療法、予防法の開発は超高齢化社会の到来を前にして急務の課題と言える。

(2) 関節の不動化やそれによって生じる固さの変化はいずれも細胞を取り巻くメカニカルストレスの変化と捉えることができる。これまで細胞が組織に加わるメカニカルストレスをどのように検出し、それに対して反応するのかについて分子レベルの知見は限定的なものであった。分担研究者の澤田らは細胞膜に発現するメカニカルストレスセンサーp130Casの機能を明らかにし(Sawada Y et al., *Cell*. 2006)、さらにメカニカルストレスによって細胞内で炎症反応が誘導されるメカニズムを明らかにした。また、個体レベルにおいてp130Casは体の多くの部位で発現し、骨組織においては骨粗鬆症に関与すると考えられている。したがって、p130Casは関節を構成する様々な組織においても発現し、メカニカルストレスの感知に寄与していることが想定された。

2. 研究の目的

本研究は、関節拘縮発生をメカノセンシングシグナルという新たな視点で捉え分子レベルで解析することで、その発生メカニズムを明らかにし、新たな予防法そして治療法の開発へとつなげる基盤を構築することを当初の目的とした。

3. 研究の方法

(1) マウス後肢不動化モデルの確立

マウス後肢の皮下にワイヤーを通し、膝関節を屈曲位で固定する手法を想定していたが、より侵襲の小さい固定法を選択すべきと考え、皮膚上でワイヤーを巻き、膝関節伸展位での固定を行うことにした。

(2) 不動化によりマウス膝関節周囲組織で認められる炎症所見の検討

炎症反応制御で中心的な役割を果たす転写因子であるNF- κ Bの活性化状態、炎症性サイトカイン・ケモカインであるTNF- α 、MCP-1の免疫組織科学的評価を行った。

(3) 局所的反復性メカニカルストレス応答性の検討

メカニカルストレスとして下腿三頭筋内

に50 mmHgの内圧変化を生じる圧迫を下腿体表面から反復性に30分間加え、局所の炎症や後肢不動化に伴う筋萎縮に対する影響を検討した。

4. 研究成果

(1) マウス後肢不動化モデルの確立

皮膚上でのワイヤーによる後肢不動化はギプス固定と比べ、固定中の後肢を直接観察しながら固定を再調整することができることは大きな利点と考えられた。膝伸展位固定では必ずしも拘縮が生ずるわけではないが、可動という重要なメカニカルストレスを失った組織に起こる機能変容の解析には適していると考えられた。なお、この固定法の開発・確立自体を論文化した(Onda et al. *Muscle Nerve*. 2016)

(2) 不動化によりマウス膝関節周囲組織で認められる炎症所見

- 下腿三頭筋組織の間質に存在する細胞、特にマクロファージで不動化によりTNF- α 、MCP-1の発現が促進された。
- 上記実験結果より、マクロファージが不動化の感知細胞として重要であると考え、リポゾーム化したビスホスホネート剤(クロドロネート)の投与により、食欲能のあるマクロファージを枯渇させたところ、不動化によりマクロファージ以外の細胞に生じる炎症性物質の発現促進も顕著に抑制された。
- また、リポゾーム化クロドロネートを投与したマウスでは不動化による筋萎縮が生じなかった。

以上の結果は、不動性筋萎縮にマクロファージにおける炎症性反応が重要な役割を果たしていることを示す。

(3) 局所的反復性圧迫による、不動性筋萎縮とマクロファージにおける炎症性反応の抑制効果

- 局所的反復性圧迫により下腿三頭筋の不動性筋萎縮が有意に抑制された。
- 局所的反復性圧迫により後肢不動化による下腿三頭筋組織内のマクロファージ数の増大、TNF- α 、MCP-1の発現促進が抑制された。
- 局所的反復性圧迫によるTNF- α 、MCP-1発現抑制効果は特にマクロファージで顕著であった。
- リポゾーム化クロドロネートを投与したマウスでは局所的反復性圧迫によるマクロファージ数減少、TNF- α 、MCP-1発現抑制の効果は認められなかった。

以上の実験結果は、不動性筋萎縮には局所のマクロファージの活性化が関与しており、エクササイズ(筋収縮)ではなくメカニカルストレスによる介入にて局所のマクロファージの活性を抑制すれば、身体不活動による筋萎縮を抑制あるいは最小限にできることを示唆する。

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 15 件)

- ① Kodama R, Nakamura K (14 名中 12 番目), et al. Prevalence of hand osteoarthritis and its relationship to hand pain and grip strength in Japan: The third survey of the ROAD study. *Mod Rheumatol*. 26(5): 767-773, 2016
- ② Teraguchi M, Nakamura K (15 名中 13 番目), et al. Metabolic syndrome components are associated with intervertebral disc degeneration: The Wakayama Spine Study. *PLoS One*. 11(2): e0147565, 2016
- ③ Iidaka T, Nakamura K (9 名中 8 番目), et al. Prevalence of radiographic hip osteoarthritis and its association with hip pain in Japanese men and women: the ROAD study. *Osteoarthritis Cartilage*. 24(1): 117-123, 2016
- ④ Onda A, Sawada Y (10 名中 6 番目), et al. A new model of disuse-induced skeletal muscle atrophy using spiral wire immobilization. *Muscle Nerve*. 54(4):788-791, 2016
- ⑤ 澤田泰宏. p130Casを介する細胞のメカノ機能と恒常性の制御. *医学のあゆみ*. 257(10):1031-1036, 2016 査読無
- ⑥ Yoshimura N, Nakamura K (7名中6番目), et al. Factors affecting changes in the serum levels of 25-hydroxyvitamin D: a 3-year follow-up of the ROAD study. *Osteoporos Int*. 26(11): 2597-2605, 2015
- ⑦ Muraki S, Nakamura K (12 名中 11 番目), et al. Quadriceps muscle strength, radiographic knee osteoarthritis and knee pain: the ROAD study. *Musculoskelet Disord*. 16:305, 2015
- ⑧ Nakamura K (5名中ファースト) et al. The concept of locomotive syndrome and its relationship with frailty and sarcopenia. *Nihon Rinsho*. 73(10): 1746-1753, 2015 査読無
- ⑨ Ogata T, Nakamura K (8 名中ラスト), et al. MEKK1-dependent phosphorylation of calponin-3 tunes cell contractility. *J Orthop Sci*. 20(5): 888-895, 2015
- ⑩ Yoshimura N, Nakamura K (8名中ラスト), et al. Association between new indices in the locomotive syndrome risk test and decline in mobility: third survey of the ROAD study. *J Orthop Sci*. 20(5): 896-905, 2015
- ⑪ Muraki S, Nakamura K (11名中10番目), et al. Does osteophytosis at the knee predict health-related quality of life decline? A 3-year follow-up of the ROAD study. *Clin Rheumatol*. 34(9): 1589-1597, 2015
- ⑫ Mure K, Nakamura K (10名中8番目), et al. Urinary 8-iso-prostaglandin F2 α as a marker of metabolic risks in the general Japanese population: The ROAD study. *Obesity (Silver Spring)*. 23(7): 1517-1524, 2015
- ⑬ Muraki S, Nakamura K (14名中11番目), et al. Joint space narrowing, body mass index, and

knee pain: the ROAD study (OAC1839R1). *Osteoarthritis Cartilage*. 23(6):874-881, 2016

- ⑭ Yoshimura N, Nakamura K (7名中6番目), et al. Mutual associations among musculoskeletal diseases and metabolic syndrome components: A 3-year follow-up of the ROAD study. *Mod Rheumatol*. 25(3): 438-448, 2015
- ⑮ Teraguchi M, Nakamura K (16名中14番目), et al. The association of combination of disc degeneration, end plate signal change, and Schmorl node with low back pain in a large population study: the Wakayama Spine Study. *Spine J*. 15(4): 622-628, 2015

[学会発表] (計 7 件)

- ① シンポジウム「健康寿命を延ばすために」運動器の健康と健康長寿—ロコモティブシンドローム (ロコモ) —. 第50回日本成人病 (生活習慣病) 学会学術集会. 東京. 2016年1月
- ② Locomotive Syndrome-Measure for increasing healthy life expectancy-. 第13回国際骨形態計測学会. 東京. 2015年4月
- ③ 超高齢社会における健康長寿の実現と運動器対策. 第 50 回日本理学療法学術大会. 東京. 2015 年 6 月
- ④ 「治療型」メカニカルストレスと「障害型」メカニカルストレス. 第 31 回日本整形外科学会基礎学術集会. 福岡. 2015 年 10 月
- ⑤ ロコモの臨床判断値. 第 27 回日本運動器科学会. 宮崎. 2015 年 7 月
- ⑥ 動く喜び、動ける幸せ、歩ける喜び、ロコモ予防. 第 27 回日本運動器科学会. 宮崎. 2015 年 7 月
- ⑦ ロコモティブシンドロームの概念とその臨床判断値. 第 33 回日本骨代謝学会. 東京. 2015 年 7 月

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: 健康促進装置

発明者: 小西あおい, 秋下雅弘, 澤田泰宏, 柳泳在, 前川貴郊, 村瀬修平, 井上剛伸, 高嶋淳, 硯川潤

権利者: 株式会社甦蓑家

種類: 特許

番号: 特許願 2017-104095 号

出願年月日: 平成 29 年 5 月 26 日

国内外の別: 国内

○取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

中村 耕三 (Nakamura, Kozo)

国立障害者リハビリテーションセンタ

ー・研究所・顧問

研究者番号：60126133

(2)研究分担者

澤田 泰宏 (SAWADA, Yasuhiro)

国立障害者リハビリテーションセンタ

ー・研究所運動機能系障害研究部・部長

研究者番号：50313135

(3)研究分担者

江面 陽一 (EZURA, Yoichi)

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・准教授

研究者番号：50333456