

令和元年5月30日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K19998

研究課題名(和文) 腱炎・腱鞘炎に対する炭酸ガス経皮吸収の有効性の検討

研究課題名(英文) The effects of Transcutaneous CO<sub>2</sub> Application for the Symptoms of Tendinitis in Collagenase-induced tendinitis Rat Model

研究代表者

原田 理沙 (Harada, Risa)

神戸大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：30736864

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：腱炎は日常生活やスポーツでのoveruseにより発症し、頻発する疾患にも関わらず有効な治療法は少ない。炭酸ガス療法は古くから、組織修復や組織の抗炎症に有効性が示唆されている。本研究ではラットの片側下肢に人為的に腱炎を作成した腱炎モデルラットに対して炭酸ガス経皮吸収が構造的・組織学的に与える影響について検討した。健常ラット、腱炎モデルラット、腱炎モデルラット+炭酸ガス治療群の3群に分けて比較したところ、炭酸ガス治療群は非治療群に比較して腱炎による下肢の腫脹が早期に消退した。また腱炎部位の検討でも早期に治癒傾向を認め、炭酸ガス経皮吸収は腱炎の治癒促進に対して有効であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腱炎は出産育児期の女性や労働者にも好発し、その治療には安静が必要であり活動制限を生じさせる。頻発する疾患にも関わらず活動制限を必要としない有効な治療法がない腱炎に対して、本研究は、炭酸ガス経皮吸収が副作用が少なく、治癒促進効果をもつ可能性を示唆した。今後更なる検討が必要であるが、炭酸ガス経皮吸収を応用した治療法が実用化されれば、腱炎の罹病機関の短縮・治癒促進につながる。多くの腱炎患者の活動性やQOLの向上に寄与する可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Tendinopathy is a painful conditions of the tendon region and it and can adversely affects the patient's activity. Traditional treatment strategies are not very effective with side effects. Consequently, alternative therapies have been investigated. In the present study, we investigated the effects of CO<sub>2</sub> application on tendinitis using rat tendinitis model. We followed the effects of the treatment by macroscopic swelling measurements, histological study, and microarray analysis of the genes expressed. Topical application of CO<sub>2</sub> reduces the swelling of in the collagenase treated hindfoot. On histological study microscopic assessment, revealed the CO<sub>2</sub> treated groups showed fewer inflammatory cells in the hindfoot affected by tendinitis and misalignment of collagen fibers was observed rampant in control groups. Taken together, these results indicate that Transcutaneous transcutaneous CO<sub>2</sub> Application application accelerates the recovery in the tendinitis model studied here.

研究分野：炭酸ガス 腱炎 リハビリテーション

キーワード：腱炎 低侵襲治療 炭酸ガス経皮吸収

様式 C - 19, F - 19 - 1, Z - 19, CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

腱炎・腱鞘炎は、スポーツ選手、育児中の女性 など、手を酷使する人に多く発症し、疼痛と活動制限をもたらす。頻発する疾患であるが、有効な治療法はほとんどないのが現状である。経皮的炭酸ガス治療は、古くから炭酸泉などで知られており、現在も医療や美容などで広く行われている。炭酸ガスを経皮吸収させることで、血管拡張作用による血流増加やボーア効果による組織酸素分圧上昇が得られ、治療としての効果を発揮すると考えられている。この治療効果は、主に末梢循環障害、褥瘡、リウマチ性関節炎に対し有効な成績が報告されている。我々は、これまでに独自に開発した経皮的炭酸ガス投与システムを用い、筋組織で人工的にボーア効果を作りだし、治療局所の酸素分圧が増強される事を報告してきた。さらにラットの骨格筋に対して、炭酸ガス経皮吸収を行うことでミトコンドリア量の増加を確認した。この結果は、炭酸ガス経皮吸収が、ミトコンドリア機能の改善により筋萎縮の改善につながる可能性を示唆した。腫瘍領域においては、骨肉腫、悪性線維性組織球腫、乳がんのヌードマウス皮膚下移植モデルマウス・骨転移モデルマウスにおいても同様の治療法を用い、ミトコンドリア機能の正常化を促すことと、低酸素環境を改善し、Hypoxia Inducible factor(HIF)-1 の発現を低下させることで抗腫瘍効果が得られることを報告してきた。

### 2. 研究の目的

本研究では、腱炎・腱鞘炎の炎症・変性状態に対し経皮的炭酸ガス吸収が及ぼす影響について研究し、副作用のない疼痛緩和と機能回復を得る新たな治療開発を目的とした。

### 3. 研究の方法

ラットの片側下肢にアキレス腱付着部に生理食塩水で希釈したコラゲナーゼを注入した腱付着部モデルを作成し、健常群・腱鞘炎群+非治療群・腱鞘炎+炭酸ガス治療群に無作為に分けた。炭酸ガス治療群には炭酸ガス、無治療群には空気を週2回20分をcontrol+腱付着部炎の4群を作成し、ケージ内で自由に運動をさせる各群の6匹ずつを術後1週、2週で安楽死させ、解析を行った。

解析として、組織学的評価としてアキレス腱付着部でのコラーゲン繊維の配列の解析、免疫組織学的なコラーゲン繊維の種類分布の評価する。

炎症性サイトカインやその受容体の発現様式についても免疫組織染色・半定量PCRにて炎症の検討を行った。

変性のマーカーであるMMPs, PGに関し、免疫染色, PCRを用い分子生物学的評価を行った。血管新生血流の評価としてVascular endothelial growth factor(VEGF)の発現に関しても、免疫組織学的評価とリアルタイムPCR, マイクロアレイを用い分子学的に評価した。

### 4. 研究成果

【腱炎モデルラットの作成と炭酸ガスについて】SDラットの片側下肢にコラゲナーゼを注入し、ラット腱炎モデルを作成した。Fig1のように無作為にControl群、腱鞘炎+非治療群(Collagenase-injected)、腱鞘炎+炭酸ガス治療群(Collagenase-injected+C02 treatment)の3群に分け、炭酸ガス治療群には腱炎作成1,4,7日後に炭酸ガス、非治療群には空気を1回20分投与し、8日後に安楽死させ、アキレス腱部・中足部の周径の計測、組織採取を行った。

【腱炎モデルラットにおいて炭酸ガス経皮吸収は腱炎による腫脹を軽減させる】腱炎作成より1週後に安楽死させたラットの下肢の肉眼所見では、炭酸ガス治療群は非治療群に比較して腫脹が軽減していた。(Fig2(a))アキレス腱部・中足部の周径をノギスにて計測し比較したところ、Fig2(b) 2(c)のように、炭酸ガス群では非治療群と比較し周径が小さく、腱炎による腫脹が軽減していると考えられた。

#### 【腱炎モデルラットにおいて炭酸ガス経皮吸収は腱組織の修復を促進する】

モデルラットのH-E染色において、コラーゲン繊維の配列は炭酸ガス投与群において非治療群に比較し乱れが少なかった。(Fig.3)腱炎スコアに関しても炭酸ガス投与群の方が低値であった。(Table.1,2)

#### 【腱炎モデルラットにおいて炭酸ガス経皮吸収は炎症系マーカーMMP9の発現を抑制する】

腱組織のMMPsは対照群・炭酸ガス群に比較して非治療群で陽性細胞数の増加を認めた。(Fig.4, Table.3)

【まとめ】以上より、炭酸ガス経皮吸収は腱炎のMMPsの発現抑制を促し、治癒促進に対して有効であることが示唆された。本結果は、現在まで安静と副作用の多いNsaid以外の治療がなかった腱炎に対し、副作用が少ない新規治療法の開発の一助となると考えられる。

Fig. 1

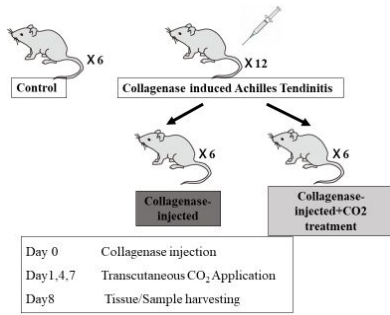


Fig. 2(a)

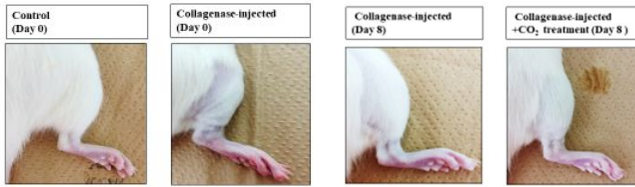


Fig. 2(b)

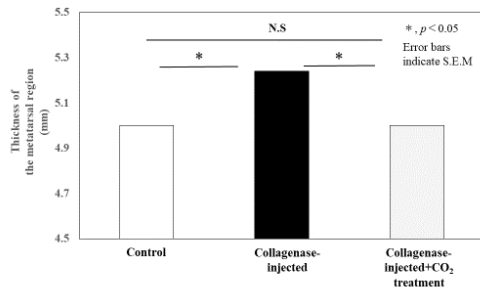


Fig. 2(c)

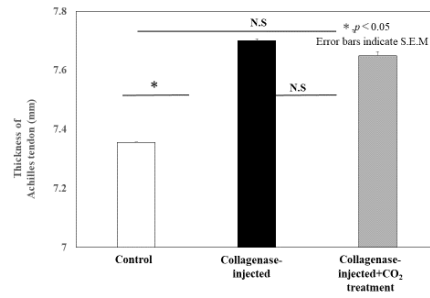


Fig. 3

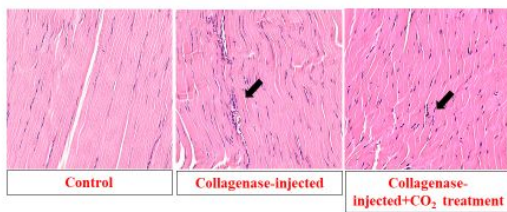


Table 1

Parameter	Score	Description
Inflammation	0	No inflammation
	1	Minimal inflammation (100% mononuclear; no neutrophils)
	2	Moderate inflammation (neutrophils 19%; remainder of cells mononuclear)
	3	Marked inflammation (neutrophils 20%; remainder of cells mononuclear)
Vascularization	0	None (no vascularization present)
	1	Moderate
	2	Abundant
Collagen Fiber Orientation	0	Collagen fibrils completely disorganized
	1	Some alignment of collagen fibrils (majority of collagen highly disorganized)
	2	Collagen fibrils highly aligned (collagen remains somewhat disorganized)
	3	Collagen fibrils completely aligned (no disorganization of collagen)
Collagen Fiber Density	0	Low density collagen bundles
	1	Medium density collagen bundles
	2	High density collagen bundles

Table 2

	Inflammation	Vascularization	Collagen Fiber Orientation	Collagen Fiber Density
<b>Control</b>	0 [0]	0 [0]	0 [0]	0 [0]
<b>Collagenase-injected</b>	1.5 [0-2]	1 [0-2]	2.5 [0-3]	1.5 [0-2]
<b>Collagenase-injected+CO<sub>2</sub> treatment</b>	0.5 [0-1]	0.5 [0-1]	1.5 [0-2]	1.5 [0-2]

Values are median [range] for n=4

Table 3

	positive cells
<b>Control</b>	0.5 [0-1]
<b>Collagenase-injected</b>	9 [8-10]
<b>Collagenase-injected+CO<sub>2</sub> treatment</b>	3.5 [3-4]

Values are median [range] for n=4 specimens.

Fig. 4



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0件)

〔学会発表〕(計 1件)

原田理沙 上羽岳志 井上美帆 赤羽志保 西本華子 乾敦幸 黒坂正弘 黒田良祐 酒井良忠, 炭酸ガス経皮吸収は、腱炎の治癒を促進する, 第 53 回日本リハビリテーション医学会学術集会, 2016

〔図書〕(計 0件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.med.kobe-u.ac.jp/rehab/index.html>

## 6. 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

### (2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。