

令和 2 年 5 月 19 日現在

機関番号：32206

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K13020

研究課題名(和文) 関節軟骨の再生治療におけるリハビリ戦略の検討

研究課題名(英文) Strategy of regenerative rehabilitation for articular cartilage

研究代表者

山口 将希 (Yamaguchi, Shoki)

国際医療福祉大学・成田保健医療学部・助教

研究者番号：00783812

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：損傷した関節軟骨の修復に物理的刺激が及ぼす影響を明らかにすることを目的として、膝関節欠損処置(OCD)モデルのラットを対象に運動介入研究を行った。OCDラットを荷重群、免荷群、運動群の3群に分けて4週間介入し、その後、各群のラットは通常ケージにて飼育した。12週後、荷重群の軟骨修復スコアは運動群に比べ有意に改善した。16週経過後では各群に有意な差はなかったが、荷重群と運動群でより修復の悪いサンプルが見られた。このことから、ラットの膝関節欠損が修復される過程において、初期の過剰な物理的負荷が中期的には修復を妨げる一方で、初期に免荷した方が長期的には修復不良となりにくいことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齢者の多くが抱える悩みとして関節軟骨の変性や損傷に伴う膝の痛みは、国内のみならず世界的にも根本的な解決法が望まれる問題である。関節軟骨は自然治癒が得られにくい組織であることが知られているが、近年の再生医療の発展に伴い、軟骨組織の再生に対しても強い期待が寄せられている。本研究は軟骨の損傷と修復に力学的な要因が中・長期的な期間のうちにどのように影響しているのかを説明するための一助として意義があり、今後の軟骨再生医療とリハビリテーションの結びつきに関わる研究である。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to verify the effect of physical stimulation to the repair of damaged articular cartilage. An osteochondral defect was created on the knee of Wistar rats. All rats were bred in normal cages in 4 weeks. After 4 weeks, rats were divided into three groups: 4 weeks loading group, 4 weeks tail suspension group, and 4 weeks exercise group. After intervention, all rats were bred in normal cages for 12 weeks and 16 weeks. The cartilage repair score of knee in loading group after 12 weeks were significantly improved compared with exercise group. After 16 weeks, there wasn't significant difference among three group, but more damaged score were observed in loading group and exercise. The finding might indicate that excessive physiological stimulation were disturb cartilage repair among medium term in repair process, but early weight control were needed for cartilage repair in chronical osteochondral defect rat knee.

研究分野：リハビリテーション

キーワード：物理刺激 運動 関節軟骨 軟骨再生

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

変形性関節症(OA)などのような関節軟骨の変性を病態とする疾患の治療では、軽症であれば筋力増強や疼痛軽減のための物理療法、温熱療法、歩行様式の改善による関節軟骨の負担を減らす保存療法を行い、重症であれば人工関節置換術などが行われる。また手術後も筋力増強や疾患によって低下した歩行能力を再獲得するためのリハビリテーションが行われる。いずれの場合においても、OAに対して理学療法のようなリハビリテーション、物理刺激介入は不可欠であり、リハビリテーションによって入院期間の短縮や運動機能の向上による介護量の軽減などが期待されている。研究代表者は先行研究としてラットの慢性化した関節軟骨損傷モデル(chronic osteochondral defect model)の膝関節に同種他家の骨髄由来間葉系間質細胞を移植するのに加えて、トレッドミル運動を行うことで短期的に関節軟骨の修復を促進し、低出力超音波パルス照射を併用することで傷ついた軟骨下骨の修復を促進することを報告した。

2. 研究の目的

本研究では将来的に慢性化した関節軟骨損傷に対する細胞移植治療において運動を含む物理的な刺激が中・長期的に損傷した関節軟骨の再生にどのように影響を及ぼすのかを明らかにすることを目的としている。そのために2つの目的を段階的に検討した。

(1)慢性化した関節軟骨損傷を有する膝関節に対して負荷量の変動を一定期間介入することでその後の関節軟骨の損傷の拡大や修復に影響を及ぼすのかを明らかにする。

(2)関節軟骨損傷を有する膝関節に対して細胞移植した後、運動量を一定期間制限あるいは増加させることがその後の関節軟骨の修復に影響を及ぼすのかを明らかにする。

3. 研究の方法

上記の目的(1)を達成するため、先行研究と同様の chronic osteochondral defect model ラットを作成した。chronic osteochondral defect model ラットを、負荷量を増減させず通常飼育した荷重群と尾部懸垂を行い下肢への荷重を免除した免荷群、トレッドミルで強制走行を負荷した運動群の3群に分けた。先行研究において中等度の運動強度を4週間行うことで短期的に軟骨の修復促進の効果が見られたことから、それぞれの介入期間を4週間とし、運動群の負荷強度も同様に設定した。介入後、3群をそれぞれ通常のケージにて飼育し、12週および16週後にラットを安楽死させ、膝関節の摘出を行い、組織染色を行う。得られた組織画像を骨軟骨スコアを用いて評価した。

また(2)としてラット間葉系幹細胞(r-MSC)を大腿骨および脛骨から無菌的に採取、培養し、十分な量を osteochondral defect model ラットの膝関節に関節内注入により移植し、同様の介入を行うものとした。

今回の研究では研究代表者が2017年4月より申請時の研究施設から異動となり、十分な動物実験施設を確保できなかった。そのためラットの処置および細胞の摘出を研究代表者が実施し、ラットの飼育および細胞培養を研究協力施設の実験補助者に委託して行い、研究者の所属施設における動物実験施設の運用が整ってから、研究手法を新たに導入していく予定であった。

4. 研究成果

所属施設における動物実験施設の運用準備が整わず、研究を協力施設にて行った。細胞移植のために同種他家のラットより骨髄由来間葉系間質細胞の単層培養をラット飼育を依頼していた技術協力員に培養技術指導の上、細胞の培養を依頼した。しかし細胞培養装置の協力施設における別研究の使用や距離と時間の制約により技術協力員への指導不足から細胞培養のコンタミ発生が続き、研究計画(2)の見直しが必要となった。そのため研究計画(1)における成果を報告する。

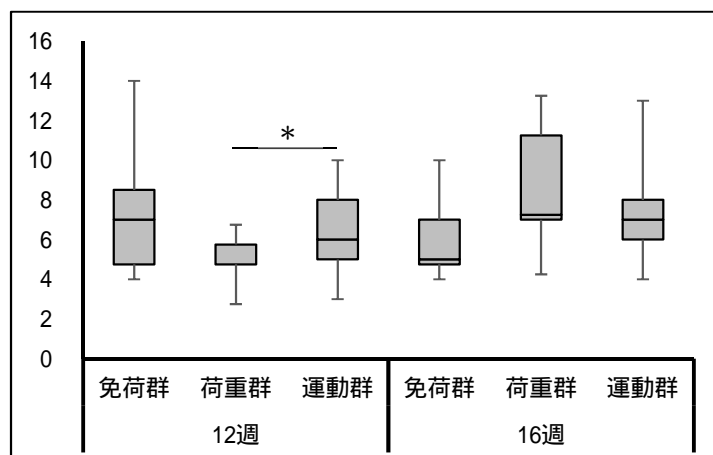


図1: 介入後12週と16週後の時点における各群の軟骨修復スコア。

12週後の時点において、初期に荷重を制限しなかった荷重群と初期に運動負荷を行った運動群の間にはのみ有意な差を認めた。

一方で、16週の時点ではばらつきが大きく有意な差は見られなかったが、荷重群と運動群において修復が不良なサンプルが見られた。

先行研究では細胞移植と運動負荷を併用することによる軟骨修復効果の短期的影響を検証し、良好な成績が見られていた

様 式 C - 1 9、F - 1 9 - 1、Z - 1 9 (共通)

が、細胞移植を行わない場合、長期的に見ると初期に荷重量の制限を行った方が、軟骨修復が不良化しにくいのではないかとということが示唆された。

< 引用文献 >

Yamaguchi S, Aoyama T, Ito A, Nagai M, Iijima H, Tajino J, Zhang X, Kiyan W, Kuroki H. 「The Effect of Exercise on the Early Stages of Mesenchymal Stromal Cell-Induced Cartilage Repair in a Rat Osteochondral Defect Model.」 PLOS One. 2016 Mar 11;11(3):e0151580. doi: 10.1371/journal.pone.0151580. eCollection 2016.

Yamaguchi S, Aoyama T, Ito A, Nagai M, Iijima H, Tajino J, Zhang X, Wataru K, Kuroki H. Effect of Low-Intensity Pulsed Ultrasound after Mesenchymal Stromal Cell Injection to Treat Osteochondral Defects: An In Vivo Study. Ultrasound in Medicine & Biology 2016; pii: S0301-5629(16)30206-X. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2016.07.021

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Junichi Tajino, Akira Ito, Momoko Tanima, Shoki Yamaguchi, Hirotaka Iijima, Akihiro Nakahata, Wataru Kiyan, Tomoki Aoyama, Hiroshi Kuroki	4. 巻 8
2. 論文標題 Three-dimensional Motion Analysis for Comprehensive Understanding of Gait Characteristics After Sciatic Nerve Lesion in Rodents	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific reports	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-018-31579-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Wataru Kiyan, Yasuaki Nakagawa, Akira Ito, Hirotaka Iijima, Kohei Nishitani, Momoko Tanima-Nagai, Shogo Mukai, Junichi Tajino, Shoki Yamaguchi, Akihiro Nakahata, Jue Zhang, Tomoki Aoyama, Hiroshi Kuroki	4. 巻 44
2. 論文標題 Ultrasound Parameters for Human Osteoarthritic Subchondral Bone Ex Vivo: Comparison With Micro-Computed Tomography Parameters	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Ultrasound in Medicine & Biology	6. 最初と最後の頁 2115-2130
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ultrasmedbio.2018.06.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Junichi Tajino, Akira Ito, Yusuke Torii, Koji Tsuchimoto, Hirotaka Iijima, Xiangkai Zhang, Momoko Tanima, Shoki Yamaguchi, Hiroshi Ieki, Ryosuke Kakinoki, Hiroshi Kuroki	4. 巻 12
2. 論文標題 Lower-body Positive Pressure Diminishes Surface Blood Flow Reactivity During Treadmill Walking	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BMC Research Notes	6. 最初と最後の頁 733
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s13104-019-4766-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	黒木 裕士 (Kuroki Hiroshi)		
研究協力者	中原 峻 (Nakahara Shun)		