

令和 5 年 6 月 6 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2022

課題番号：18K16662

研究課題名（和文）腱骨接合部の恒常性におけるメカノシグナルの解明

研究課題名（英文）The effect of mechanical stress on enthesis homeostasis in a rat Achilles enthesis organ culture model

研究代表者

齋藤 太一（Saito, Taichi）

岡山大学・医歯薬学域・助教

研究者番号：70644384

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：腱骨接合部組織であるエンテシスは腱・靭帯と骨という組織学的に大きく異なる運動器を連結している重要な構造である。本研究では期間培養モデルを用い、アキレス腱付着部にメカニカルストレス負荷を加え、構造変化にどのような影響をおよぼすのかについて調査した。本研究の結果適切なストレスではエンテシスの構造が維持され、強負荷では腱付着部の石灰化など変性を生じることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腱付着部は組織学的にも大きく異なる運動器を連結している重要な構造であり、故にその損傷は大きな問題となり、治療介入が必要とされる。しかし残念なことに、従来の保存療法・手術療法を含めた治療法ではエンテシスの正常構造を再構築できず、治療後に再断裂が生じることが問題点として挙げられる。そこで再生医療の発展が望まれるが、そのためには組織発生・変性メカニズムについて理解する必要がある。本研究によりメカニカルストレスの強弱が直接的に腱付着部の構造変化に関与することが明らかとなった。今回解明されたメカニカルストレスとの関係が今後腱着部の病態解明、再生治療の一助となりうる。

研究成果の概要（英文）：We used ex vivo models in organ cultures of rat Achilles tendons with calcaneus including the enthesis. The organ was attached to a mechanical stretching apparatus that can conduct cyclic tensile strain. We made the models of 1 mm elongation (0.5 Hz, 3% elongation), 2-mm elongation (0.5 Hz, 5% elongation), and no stress. The results of this study suggested that 1 mm elongation can maintain the structure of the enthesis, while 2 mm elongation promotes degenerative changes.

研究分野：Orthopedics

キーワード：エンテシス

1. 研究開始当初の背景

腱骨接合部 = エンテシスの損傷に対する現在の治療法では正常構造の再構築は困難であり、再生医療の開発が望まれている。そして、その実現のためには組織発生や形成、変性メカニズムについての理解が必要である。これまでエンテシスの発生においてメカニカルストレスが重要であることが報告されているが、恒常性に対しての役割は不明な点が多い。

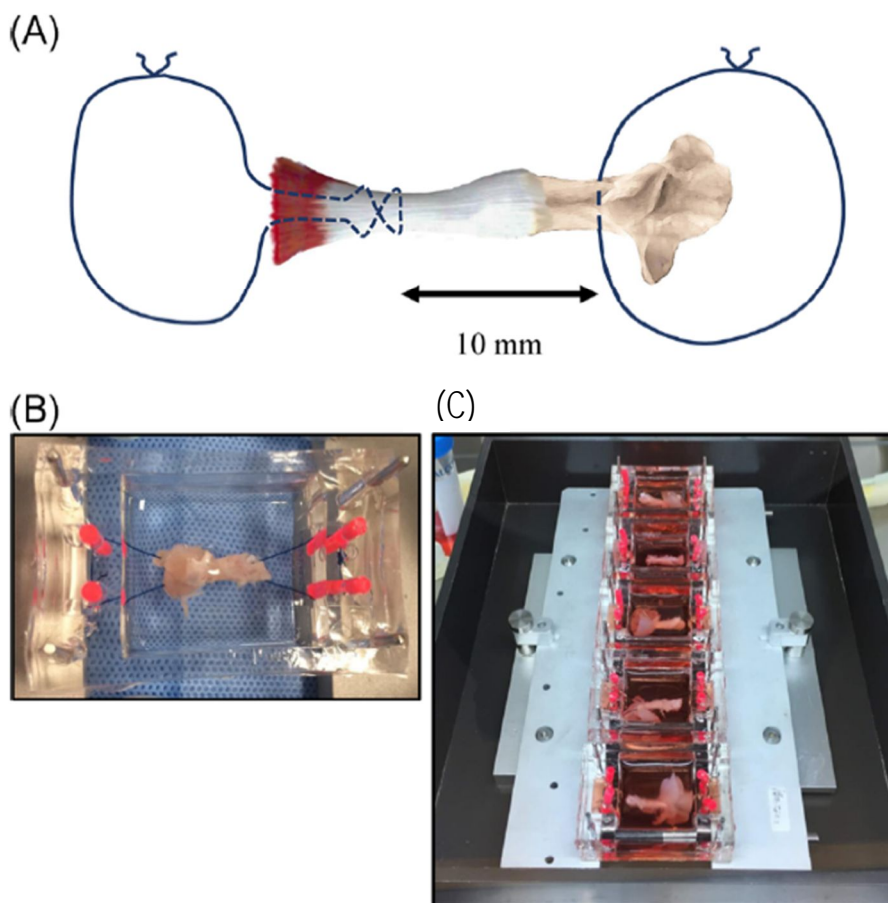
2. 研究の目的

本研究ではアキレス腱付着部にメカニカルストレス負荷を加え、構造変化にどのような影響をおよぼすのかについて調査した。

3. 研究の方法

ラットの踵骨付きアキレス腱組織の器官培養を行い、*ex vivo* model を用いることとした(図1A)。さらに、このラットの踵骨付きアキレス腱組織を周期的伸展装置に取り付け、アキレス腱付着部組織に対するメカニカルストレスの影響が調査できる“*ex vivo* mechanical stress model”を開発した(図1B,C)。この*ex vivo* model を用いて伸張ストレスをかけていない群(Stress (-)群)、10%伸張ストレスを1週間かけた弱負荷群(Stress (+)群)、20%伸張ストレスを1週間かけた強負荷群(Stress (++)群)について、組織学的評価、免疫染色および real time PCR を用い、エンテシスに参与する RNA 及びタンパク発現について比較評価した。

図1



4. 研究成果

Stress (+)群では他の群に比べエンテシス構造の維持がみられた(図 2D,H)

。また同様に TUNNEL 染色においても、Stress (+)群ではアポトーシスを起こしている細胞は他群に比べ少なく(図 3)、さらに、Sox9, SCX、BMP4 などエンテシスに関わる重要なマーカーについては免疫染色、および RNA において発現が多くみられた(図 4A,B)。強負荷(Stress (++))群においては、内軟骨性骨化、骨棘形成誘導を示唆する Runx2 などの発現が他群に比較し多くみられた(図 4C,D)。

以上の結果より、ストレスがない状態ではエンテシスの構造は完全に破綻し、適切なストレスではエンテシスの構造が維持され、強負荷では腱附着部の石灰化など変性を生じることが明らかとなった。本研究により初めて、メカニカルストレスの強さの変化がエンテシス構造に影響を及ぼすことが明らかとなったが、今後はこれらの恒常性の維持や組織の変性についてさらにシグナルの上流にさかのぼって研究を行い、エンテシスにおける重要な役割を担うメカノチャンネルの探索を引き続き行っていく。

図 2

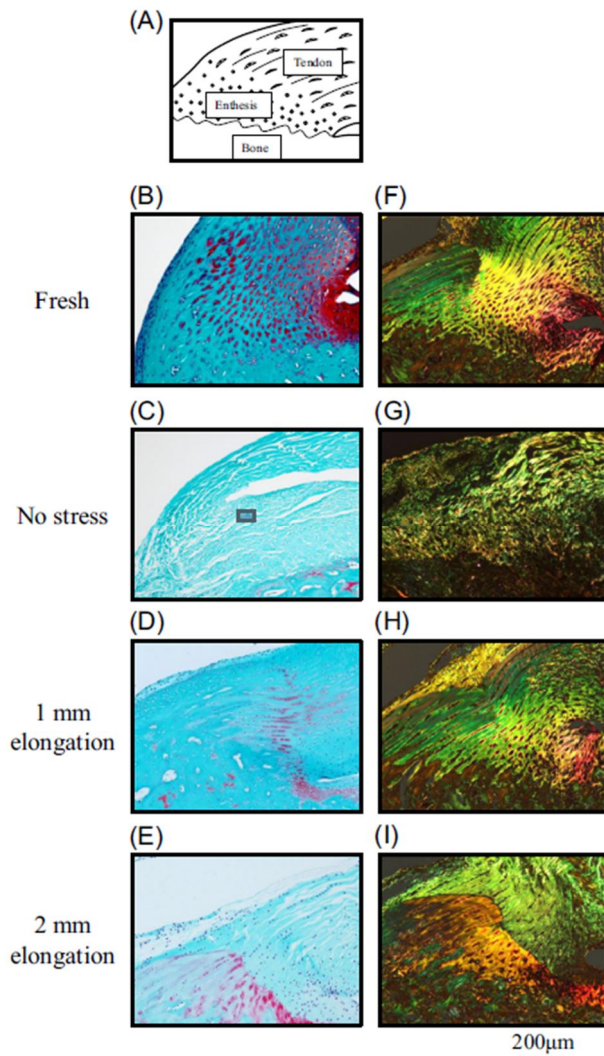


図 3

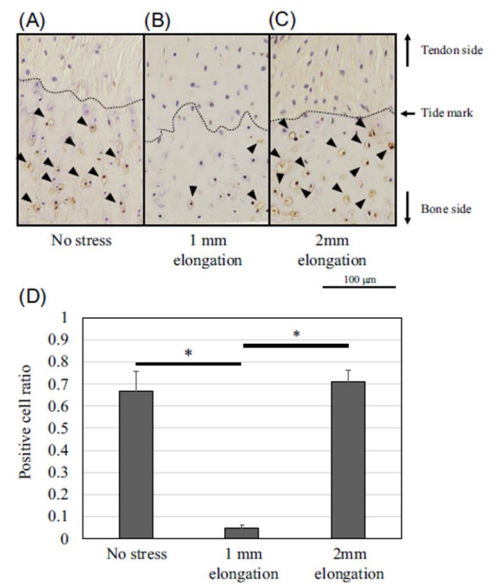
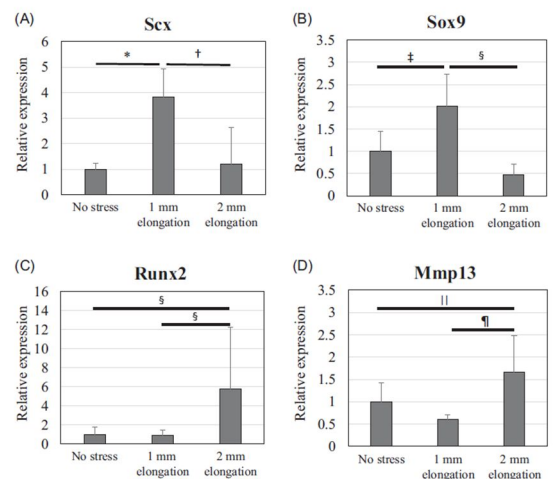


図 4



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Taichi Saito, Aki Yoshida, Satoshi Nezu, Minami Matsuhashi, Yasunori Shimamura, Takayuki Furumatsu, Keiichiro Nishida, Toshifumi Ozaki
2. 発表標題 The effect of mechanical stress on enthesis homeostasis
3. 学会等名 American Academy of Orthopaedic Surgeons 2020 Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 斎藤太一 根津智史 松橋美波 吉田晶 島村安則 古松毅之 西田圭一郎 尾崎敏文
2. 発表標題 腱骨接合部の恒常性におけるメカニカルストレスの影響
3. 学会等名 第34回日本整形外科基礎学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Taichi Saito, Aki Yoshida, Satoshi Nezu, Minami Matsuhashi, Yasunori Shimamura, Takayuki Furumatsu, Keiichiro Nishida, Toshifumi Ozaki
2. 発表標題 The effect of mechanical stress on enthesis homeostasis
3. 学会等名 Orthopaedic Research Society 2019 Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Taichi Saito, Aki Yoshida, Satoshi Nezu, Minami Matsuhashi, Yasunori Shimamura, Takayuki Furumatsu, Keiichiro Nishida, Toshifumi Ozaki
2. 発表標題 The effect of mechanical stress on enthesis homeostasis
3. 学会等名 American Academy of Orthopaedic Surgeons 2020 Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------