

令和 3 年 5 月 17 日現在

機関番号：20101

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K16667

研究課題名（和文）筋脂肪細胞と炎症性サイトカインの関連に着目した疼痛発生メカニズムの解明

研究課題名（英文）Investigation of mechanism of pain generation focusing on the relationship between muscle adipose tissue and inflammatory cytokines

研究代表者

高島 弘幸 (Takashima, Hiroyuki)

札幌医科大学・医学部・研究員

研究者番号：90608738

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）：我々は、ヒト生体において、筋や椎間板などの脊椎周辺の関連組織と腰痛の関連について解析を行い、慢性腰痛患者では、多裂筋の筋細胞内脂肪（IMCL）が上昇していることを報告した。しかし、IMCLと疼痛の関連について、そのメカニズムは明らかになっておらず、それらを検討した基礎研究は存在しない。我々ははじめにIMCLの上昇を示す動物モデルが必須と考え、尾部懸垂に後肢ギプス固定を併用した不動物モデルにてIMCLの解析を行い、IMCLの有意な低下を認めた。動物の不動物モデルは、IMCLの低下モデルとして使用可能なことが明らかになったが、上昇モデルの作成は今後の課題である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

IMCLの上昇に伴う遊離脂肪酸の蓄積により脂肪組織特異的なホルモンが分泌され、炎症促進因子（TNF、IL-6など）の産生が惹起されることで腰痛が発生することが示唆されている。しかし、ヒトでは筋の採取などを含め、これらの仮説を立証することは困難であることから、IMCLの変化を反映する動物モデルの開発はこれらのメカニズムを解明するために必要不可欠である。本研究では、IMCLが低下するモデルを確立することができたが、今後はIMCLが上昇するモデルを開発し、慢性疼痛の病態解明および治療法の開発につながる基礎研究を行うことが可能となる。

研究成果の概要（英文）：Previous studies have reported the relationship between low back pain (LBP) and fat degeneration or atrophy in the paraspinal muscles. We applied MR spectroscopy to the investigation of LBP. We compared intra-myocellular lipid (IMCL) and extra-myocellular lipid (EMCL) in paraspinal muscles between asymptomatic volunteers and LBP patients and reported that IMCL in Mm of patients with LBP was higher than that in Mm of asymptomatic volunteers. However, there were no fundamental studies investigating relationship between IMCL and pain. To investigate the relationship between pain and IMCL, we considered that it was essential to develop animal model indicating increasing IMCL. This study results that there was significant decrease of IMCL using tail-suspended combined with hind-limbs-casted rat model. Tail-suspended combined with casted rat model enables to use as rat model showing decrease of IMCL.

研究分野：脊椎脊髄病学

キーワード：chronic low back pain fat degeneration intra-myocellular lipid animal model

1. 研究開始当初の背景

厚生労働省による国民生活基礎調査のデータによると、入院を含まない腰痛の有訴率は約**8.5%**であり、男性では最も多く、女性では肩こりに次いで**2**番目に多い愁訴である。また一般住民を対象とした大規模疫学調査が行われており、腰痛の有訴率は**25~35%**程度であると報告されている[1]。今や腰痛は、医療費の高騰を招くのみならず、患者の社会参加を妨げることによる経済損失も莫大であり、各国で社会問題となっている。本邦は世界でも類を見ない超高齢社会を迎えており、今後、医療費の高騰とともに就労困難による生産の低下、介護などにかかるコストを含めた社会経済に与える損失が増大していくことが危惧される。

腰痛は、脊椎外傷、化膿性脊椎炎、脊椎・脊髄腫瘍など原因が明らかな特異的腰痛と原因の同定が困難な非特異的腰痛に分類され、後者が**80%**以上を占めるといわれている[2]。非特異的腰痛は、筋・筋膜や椎間板、椎間関節および仙腸関節、脳機能の低下やストレスなどが原因として考えられている。診断のために様々な画像検査や神経ブロックなどの補助的診断が行われているが、疼痛発生源の同定は困難なことが多い。さらに、傍脊柱筋の脂肪変性や骨粗鬆症も腰痛との関連が示唆されているが[3]、未だ詳細な病態解明には至っておらず、治療法も確立されていない。我々は、腰痛を主訴に当科を受診し、**3**カ月以上症状が持続している非特異的腰痛患者および腰痛がない健常人を対象とし、**MR spectroscopy (MRS)**を用いて、傍脊柱筋脂肪量を筋細胞内脂肪(**intra-myocellular lipids: IMCL**)および筋細胞外脂肪(**extra-myocellular lipids: EMCL**)に分離して解析を行った。その結果、腰痛患者の多裂筋では健常人に比べ、**IMCL**が有意に上昇していることを報告した(図1)[4]。**IMCL**は、骨格筋細胞内に脂肪滴として存在し、運動負荷により減少することから有酸素代謝能と関連があると考えられている。さらに、先行研究により**2**型糖尿病やインスリン抵抗性との関連が報告されており、筋のみならず、全身の代謝能との関連が示唆されている[5]。

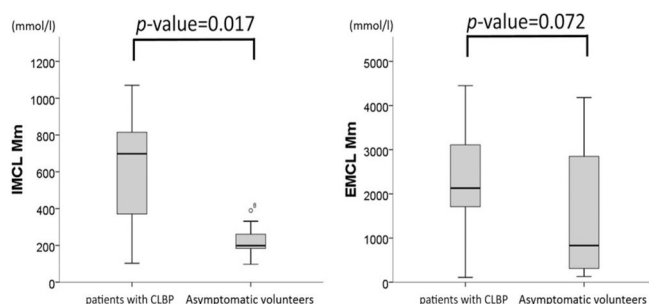


図1. 慢性腰痛患者と健常人の多裂筋の**IMCL**および**EMCL**
慢性腰痛患者では**IMCL**が有意に上昇(文献4(筆者ら)より引用)

一方、脂肪組織から分泌される生理活性物質は総称してアディポサイトカインと呼ばれており、肥大化した脂肪細胞ではこれらのアディポサイトカイン産生調節機能の破綻が生じている[6]。すなわち、**MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1)**、**TNF (tumor necrosis factor alpha)**、**IL-6 (interleukin-6)**、遊離脂肪酸(**FFA; Free Fatty Acid**)など炎症性サイトカインの産生増加とアディポネクチンなどの炎症抑制因子の産生減少が生じ、結果的に炎症が促進される。さらに肥満に伴い、脂肪組織へのマクロファージ浸潤が増加することが注目されている。肥満の脂肪組織では**MCP-1**の産生が亢進することにより脂肪組織へのマクロファージ浸潤が誘導され、**TNF**の産生の増加および全身のインスリン抵抗性が悪化することが報告されている(図2)。以上より、脂肪細胞が肥大化することによって起こるアディポサイトカイン産生調節機能の破綻および炎症抑制因子の産生減少が筋脂肪でも同様に起こることが明らかになれば腰痛発生のメカニズムの解明や治療法の開発に役立つ可能性がある。筋の脂肪変性が疼痛を惹起するという事は新規の概念であり、基礎医学の観点からは詳細な検討がなされておらず、疼痛発生のメカニズムの詳細は未だ不明である。

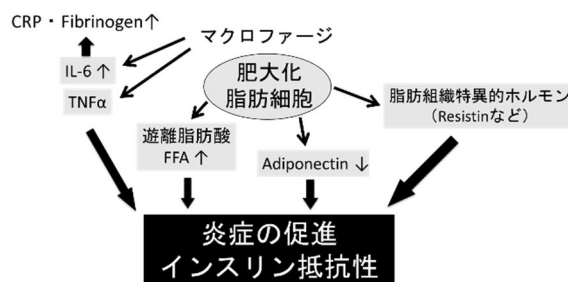


図2. 脂肪細胞と炎症性サイトカインおよびインスリン抵抗性の関係

2. 研究の目的

本研究の目的は、筋萎縮モデルのひとつである尾部懸垂モデルラットの後肢の**IMCL**および**EMCL**を解析し、**IMCL**の上昇モデルとなり得るかを検討し、**IMCL**の蓄積に伴う疼痛発生メカニズムについて検討することである。

3. 研究の方法

雄性**Wistar**ラットを用いて以下の方法で実験を進めた。

(1) MRSの撮像条件の検討

小動物用MRI装置は、**Bruker PharmaScan 70/16**を用いた。前脛骨筋およびヒラメ筋の**MRS**

を行うための適切なコイル (**surface** と **volume** コイル) および **volume of interest (VOI)** サイズ、水抑制 (**chess, vapor**)、**shimming (cuboid, cylinder, ellipsoid)** について、それぞれで得られたスペクトルデータから適切な撮像条件を検討した。

(2) 尾部懸垂の検討

安定かつ安全な尾部懸垂を行うために、尾部の固定方法および期間について検討した。

(3) 尾部懸垂に伴う筋脂肪変性の評価

コントロール群、尾部懸垂群 (懸垂し後肢が床に接地しない群、懸垂期間は 7 日と 14 日間)、また偽懸垂群 (懸垂し後肢が床に接地している群) を作成した。なお、飼育環境へ適応させるために、すべて購入後 7 日経過した後に実験を開始した。懸垂開始後、7、14、28 日目に両前脛骨筋およびヒラメ筋の **MRS** を行い、**IMCL** および **EMCL** の解析を行った。

(4) 尾部懸垂 + ギプス固定の検討

尾部懸垂とさらにギプス固定を行い、懸垂開始後 14、28 日目に両前脛骨筋およびヒラメ筋の **MRS** を行い、**IMCL** および **EMCL** の解析を行った。

4. 研究成果

雄性 **Wistar** ラットを合計 60 匹使用した。

(1) **MRS** の撮像条件

雄性 **Wistar** ラット、5 週齢から 11 週齢の間で検討を行い、コイル (**volume** コイル) **VOI** サイズ (15mm × 15mm × 20mm) 水抑制 (**vapor**) **shimming (ellipsoid)** とすることで、最も **IMCL** と **EMCL** のピークをとらえ、定量評価を行うことが可能となった。撮像時間は 1 部位、約 22 分であり、両前脛骨筋およびヒラメ筋を行うため、おおよそ 90 分/匹となった。11 週齢からは **volume** コイルにおさまらなくなることから、10 週齢が最終 **MRS** となるよう、5 週齢のラットを購入することとした。

(2) 尾部懸垂の検討

尾部の確実な固定をするために、尾部懸垂キットと粘着テープを用いた。成長に伴い、尾部のサイズも変わることから、連続する懸垂は 14 日が限界であった。検討途中で、懸垂からの脱落や尾部からの出血などのトラブルもあったが、症例を重ねるごとに安定した尾部懸垂を行うことが可能となった。

(3) 尾部懸垂に伴う筋脂肪変性の評価 (図 3)

雄性 **Wistar** ラット 5 週齢で納入し、7 日間の通常飼育後、コントロール群、尾部懸垂群、偽懸垂群の **MRS** を経時的に行った。前脛骨筋の **IMCL** および **EMCL** は、懸垂前 (**IMCL** : 3.64 ± 0.88, **EMCL** : 2.48 ± 1.23)、7 日後 (3.60 ± 0.96, 2.27 ± 1.39)、14 日後 (3.68 ± 0.64, 2.10 ± 1.11)、28 日後 (3.90 ± 1.70, 3.22 ± 1.54) となり、経時的に有意な変化を認めなかった。同様にヒラメ筋は、懸垂前 (3.54 ± 0.75, 2.33 ± 1.43)、7 日後 (3.04 ± 0.97, 1.98 ± 1.27)、14 日後 (2.41 ± 1.11, 2.62 ± 1.02)、28 日後 (2.36 ± 0.98, 2.95 ± 1.31) となり、有意な経時的変化を認めなかった。

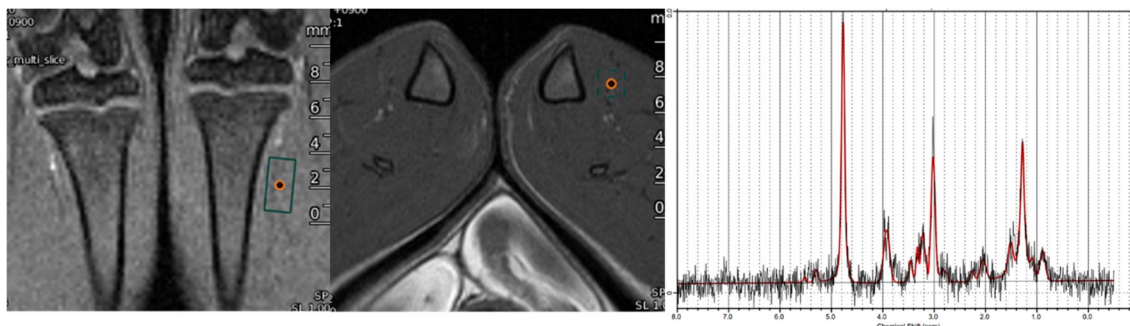


図 3. 前脛骨筋の **VOI** 設定と得られたスペクトル

(4) 尾部懸垂 + ギプス固定の検討

3 の検討で、尾部懸垂のみでは、目的とする **IMCL** の上昇をとらえることができなかったことから尾部懸垂とさらに、後肢をギプス固定し、完全に自動運動を抑制した。その結果、前脛骨筋の **IMCL** および **EMCL** は、懸垂前 (**IMCL** : 2.98 ± 1.11, **EMCL** : 2.22 ± 0.81)、14 日後 (1.81 ± 0.67, 1.98 ± 1.04)、28 日後 (1.57 ± 0.72, 1.21 ± 0.96)、同様にヒラメ筋は、懸垂前 (3.61 ± 0.86, 2.28 ± 1.21)、14 日後 (2.12 ± 0.81, 2.21 ± 0.98)、28 日後 (1.78 ± 0.97, 1.67 ± 1.19) となり、前脛骨筋、ヒラメ筋ともに尾部懸垂とギプス固定を併用することで **IMCL** は有意に低下した。

以上より、現状では、尾部懸垂 + ギプス固定によって **IMCL** が低下したことから、尾部懸垂とギプス固定を併用したラットは、**IMCL** の低下モデルとして使用可能である。今後は、**IMCL** の上昇モデルの開発が課題である。

これらの研究成果の要旨は、第 76 回日本放射線技術学会総会学術大会および第 35 回日本整形外科学会基礎学術集会で報告した。

【文献】

1. **Suka M, et al. The national burden of musculoskeletal pain in Japan: Projections to the year 2055. Clin J Pain. 2009; 25: 313-9.**
2. **Deyo, R. A. et al. Low back pain. N Engl J Med. 2001; 344: 363-70.**
3. **Teichtahl, A. J. et al. Fat infiltration of paraspinal muscles is associated with low back pain, disability, and structural abnormalities in community-based adults. Spine J. 2015; 15: 1593-601.**
4. **Takashima H. et al. Evaluation of intramyocellular and extramyocellular lipids in the paraspinal muscle in patients with chronic low back pain using MR spectroscopy: preliminary results. Br J Radiol. 2016; 89: 20160136.**
5. **Lawrence, J. C. et al. Relationship between Insulin Sensitivity and Muscle Lipids may Differ with Muscle Group and Ethnicity. Open Obes J. 2010; 2: 137-44.**
6. **Suganami T, et al. Adipose tissue macrophages: their role in adipose tissue remodeling. J. Leuko. Biol. 2010; 88: 33-39.**

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Takashima Hiroyuki, Yoshimoto Mitsunori, Ogon Izaya, Terashima Yoshinori, Imamura Rui, Akatsuka Yoshihiro, Iesato Noriyuki, Oshigiri Tsutomu, Morita Tomonori, Takebayashi Tsuneo, Emori Makoto, Teramoto Atsushi, Yamashita Toshihiko	4. 巻 73
2. 論文標題 Lumbar disc degeneration assessment using T2* relaxation time with ultra-short TE	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Magnetic Resonance Imaging	6. 最初と最後の頁 11 ~ 14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mri.2020.07.004	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 Takashima Hiroyuki, Nakanishi Mitsuhiro, Imamura Rui, Akatsuka Yoshihiro, Nagahama Hiroshi, Ogon Izaya	4. 巻 14
2. 論文標題 Optimal acceleration factor for image acquisition in turbo spin echo: diffusion-weighted imaging with compressed sensing	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Radiological Physics and Technology	6. 最初と最後の頁 100 ~ 104
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12194-021-00607-5	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 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 高島弘幸
2. 発表標題 Analysis for Skeletal Muscle with Tail-Suspended Rat Model using MR Spectroscopy
3. 学会等名 第76回日本放射線技術学会総会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高島弘幸
2. 発表標題 尾部懸垂ラットにおけるMR spectroscopyを用いた筋脂肪変性の解析
3. 学会等名 第35回日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高島弘幸
2. 発表標題 MRIによる慢性腰痛の病態解析
3. 学会等名 第28回日本腰痛学会
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