

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K18519

研究課題名(和文) 低出力体外衝撃波による関節拘縮予防および改善効果の検討

研究課題名(英文) Effects of Low-Intensity Pulsed Ultrasound for Preventing and improvement of Joint Stiffness

研究代表者

金澤 憲治 (Kanazawa, Kenji)

東北大学・医学系研究科・大学院非常勤講師

研究者番号：00804709

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)：ラット膝関節不動化モデル(Sprague-Dawley rats 380-400g)を作成し、出力体外衝撃波装置(ESWT)の拘縮予防効果について検討した。ESWT照射の適切な出力(0.25mJ/mm²、3000Hz、週3回)を決定し、2週間、4週間、6週間の固定期間で評価した。膝関節可動域はESWT群で4週間と6週間で有意に可動域が保たれており(P=0.026, 0.002)、拘縮予防効果が示された。遺伝子では拘縮に伴う線維化で増加するcollagen1a1の発現が6週固定後方関節包のESWT群でcontrol群に比べ有意に低下していた(p=0.029)。

研究成果の学術的意義や社会的意義

関節拘縮の主病変は関節包にあり線維化、炎症と共に虚血や軟骨化生も関節拘縮の重要な病態と考えられている。本研究はこれらの病態と低出力体外衝撃波の抗炎症作用や血管新生作用に着目し、ラット膝関節不動化モデルを使用して低出力体外衝撃波による関節拘縮予防効果および改善効果を検討し、線維化を抑える効果により拘縮を予防することが示された。現存しない関節拘縮の治療機器への応用として大いに期待され、医療費の抑制の観点からも大きく貢献でき、社会的影響力は大きい。

研究成果の概要(英文)：A rat knee immobilization model (Sprague-Dawley rats 380-400g) was created to examine the contracture-preventing effect of the extracorporeal shock wave device (ESWT). Appropriate output of ESWT irradiation (0.25 mJ / mm², 3000 Hz, weekly) (3 times) was determined and evaluated for a fixed period of 2 weeks, 4 weeks, and 6 weeks. The knee joint range of motion was significantly maintained at 4 and 6 weeks in the ESWT group (P = 0.026, 0.002, respectively), a contracture-preventing effect was shown. In the gene, the expression of collagen1a1, which is increased by fibrosis associated with contracture, was significantly decreased in the ESWT group of the 6-week fixed posterior joint capsule compared with the control group (p = 0.029).

研究分野：整形外科学

キーワード：関節拘縮 低出力体外衝撃波

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

関節拘縮主病変は関節包にあり線維化、炎症と共に虚血や軟骨化生も関節拘縮の重要な病態と考えられている。本研究はこれらの病態と低出力体外衝撃波 (ESWT) の抗炎症作用や血管新生作用に着目し、ラット膝関節不動化モデルを使用して ESWT による関節拘縮予防効果および改善効果を検討する。ESWT の拘縮関節包に対する作用の基礎的データを収集し、現存しない関節拘縮の治療機器への応用を検討する。

2. 研究の目的

関節拘縮は外傷や関節炎による関節の不動化、糖尿病、神経障害などで起こり、日常生活に大きな支障をきたす。関節拘縮の病態は未だ解明されていないが、線維化、炎症の他虚血や軟骨化生が重要な病態であると考えられている。関節拘縮の治療としてリハビリテーションが行われるが、十分な改善を得られないことが多く、他に有効な治療法がないのが現状である。ESWT は尿路結石や足底腱膜炎の治療として医療応用され、その抗炎症作用や血管新生作用から、本邦において狭心症・急性心筋梗塞などの虚血性心疾患、下肢閉塞性動脈硬化症、強皮症に伴う難治性潰瘍で臨床試験が進められている。本研究では ESWT の関節拘縮治療への臨床応用を目指し、ラット膝関節不動化モデルを使用して ESWT による関節拘縮予防効果、関節拘縮改善効果を検討することを目的とする。

3. 研究の方法

麻酔下に片側下肢へ膝関節包に触れないようにプラスチックプレートを経皮的に挿入し、膝関節屈曲 150° でプラスチックプレートの両端を大腿骨近位外側部と脛骨遠位外側部にミニスクリューで固定し膝関節を不動化する。ESWT 群として吸入麻酔下に低出力体外衝撃波装置 (DUDOLITH SD1, Storz Medical AG 社製) を使用し不動化した膝関節外側に衝撃波を照射する。まずは ESWT の照射の適切な出力、回数、照射群 (出力 0.25mJ/mm²、3000Hz、週 3 回)、照射群 2 (出力 0.5mJ/mm²、3000Hz、週 1 回) と control 群 (週 3 回麻酔のみ) に分け、4 週間固定を行う。コントロール群として ESWT と同様の時間吸入麻酔のみを行った。次にラットの膝関節を摘出し、筋組織を除去しレントゲン撮影が可能な「関節可動域計測器」を用いて、関節可動域の計測を行い、適切な照射群を決定する。適切な照射量を決定ののち、固定期間を 2 週間、6 週間と追加し、最も有用な期間の設定についても検討する。膝関節のパラフィンブロックから 5 マイクロメートルの切片を作成し、組織染色を行い、関節包の形態評価を行う。また、ラット膝関節包に発現する遺伝子・タンパクを定量 PCR、免疫染色を行い、線維化、炎症、軟骨化生、虚血、血管新生に関わる因子について評価を行う。さらに超音波顕微鏡を使用し関節包の音速(弾性)を評価する。

4. 研究成果

ラットの膝関節を摘出し、筋組織を除去後レントゲン撮影が可能な「関節可動域計測器」を用いて関節可動域を測定した。照射群 1、照射群 2 はコントロール群と比較し有意に可動域制限の抑制がみられた。ESWT の照射の適切な出力として出力 0.25mJ/mm²、3000Hz、週 3 回を選択した。固定期間は 2 週間、4 週間、6 週間とし、膝関節の拘縮予防効果について検討した。膝関節可動域では 2 週間では有意差はなかったが、ESWT 群が 4 週間と 6 週間で有意に可動域が保たれており (450g : P=0.041、900g : P=0.026、0.002)、拘縮予防効果が示された (図 1)。それぞれの固定期間で膝関節前方・後方の関節包の低酸素、炎症、線維化、軟骨化生、血管新生に関する遺伝子・蛋白の発現の評価を行なった。拘縮に伴う線維化で増加する collagen1a1 の発現が 6 週固定後方関節包の ESWT 群で control 群に比べ有意に低下していた (p=0.029) (図 2a,b)。炎症のマーカーである IL-6 の発現が 6 週固定前方後方関節包の ESWT 群で (p=0.09、0.026)、TNF- α の発現が 4 週固定後方関節包の ESWT 群で control 群に比べ有意に増加していた (p=0.017)。また、TNF- α の発現が 6 週固定前方関節包の ESWT 群で control 群に比べ有意に低下していた (p=0.007) (図 3a,b)。血管新生のマーカーである VEGF の発現が 6 週固定前方関節包の ESWT 群で有意に低下していた (図 4a,b)。

これらの結果より、ESWT は線維化や血管新生を抑制することで、関節拘縮を予防する可能性が考えられた。ESWT 群で 6 週間固定での炎症マーカーの上昇が見られ、長期使用での変化は今後調査が必要であると考えられた。

引き続き軟骨化生に関する関節包の PCR を行う予定である。また、それぞれの固定週数の還流固定、脱灰作業を行い、現在スライドを作成している過程で、今後は組織形態の評価、免疫染色、超音波顕微鏡を用いた関節包の弾性評価を行う予定である。

図1

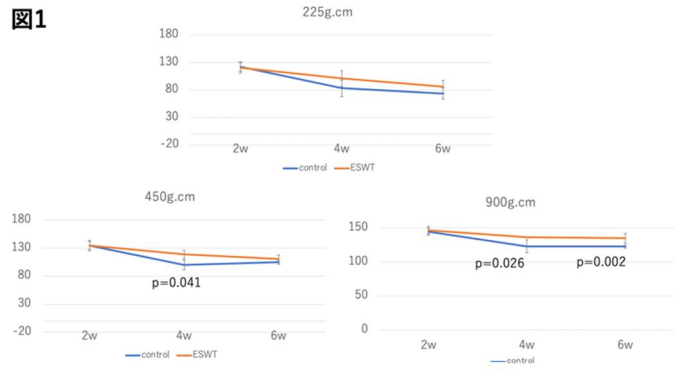


図2a

前方関節包

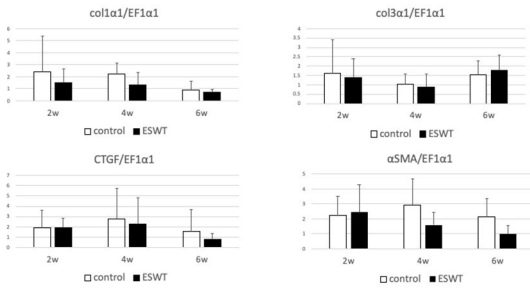


図2b

後方関節包

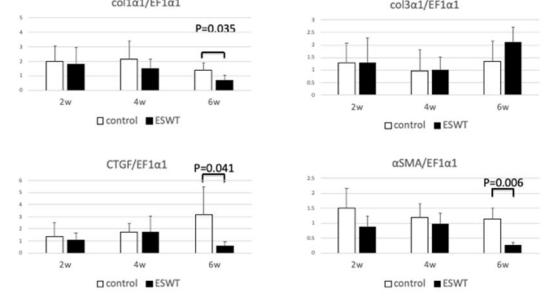


図3a

前方関節包

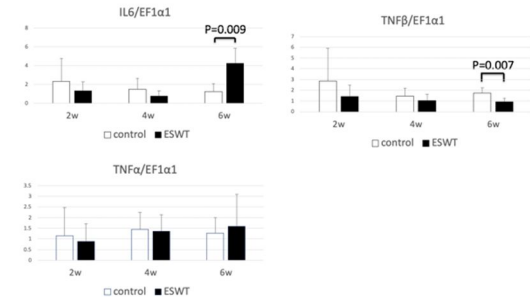


図3b

後方関節包

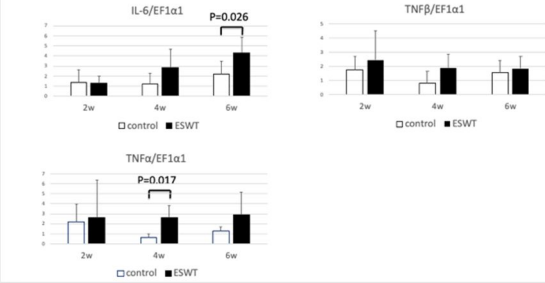


図4a

前方関節包

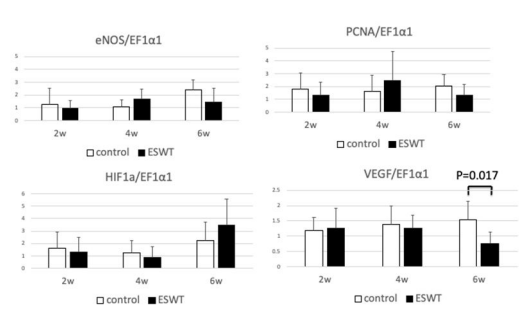
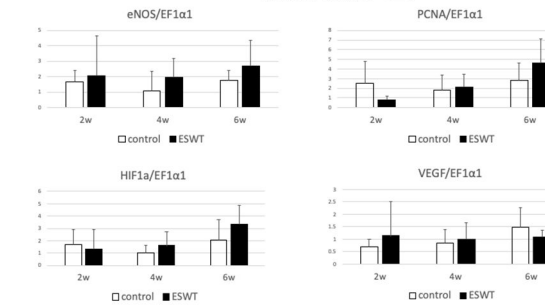


図4b

後方関節包



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

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

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
---------	---------