

令和 5 年 6 月 13 日現在

機関番号：84404

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K19367

研究課題名(和文) 運動療法の効果をメカニカルストレスで再現することによる変形性関節症の分子病態解明

研究課題名(英文) Deciphering the molecular mechanisms of osteoarthritis by recapitulating the positive effects of exercise on osteoarthritis with mechanical intervention

研究代表者

崎谷 直義 (Sakitani, Naoyosi)

国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・リサーチフェロー

研究者番号：30824859

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)：当初の計画では、メカニカルストレス介入にて、運動による変形性膝関節の改善効果を再現できるかを検証する予定であったが、技術的な問題が生じ、研究の遂行に遅滞が生じた。そこで、高血圧症に対するメカニカルストレス介入実験も併せて行い、以下の結果を得た。

1) ラットを用いた実験で適度な運動として用いられる中速度トレッドミル走行で生じる頭部の加速度を再現する機器(passive head motion: PHM)を開発した。

2) PHMによる介入は、血圧調整中枢である頭側延髄腹外側野の間質液流動を生じさせ、それに伴い生じる流体せん断力がアストロサイトのAT1R発現を低下させ、高血圧を改善した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

運動による健康増進効果は多岐にわたる。その効果は統計学的に証明されているが、分子メカニズムには不明な点が多い。運動効果の背景で間質液流動に伴う流体せん断力による細胞機能制御が重要な役割を果たすことを明らかとした本研究は、運動による健康増進効果の分子メカニズムの解明を目指す研究に新たな視点を提供する。

研究成果の概要(英文)：1) We developed an experimental system(passive head motion: PHM) that reproduces the acceleration generated in the head during rats' treadmill running at a modest velocity (20 m/min), a typical experimental intervention to test the effects of physical exercise on rats.

2) PHM generated interstitial fluid movement in the rostral ventrolateral medulla, leading to fluid shear stress-induced decrease in the AT1R expression in astrocytes in situ, and thereby ameliorated hypertension.

研究分野：リハビリテーション科学

キーワード：運動 変形性膝関節症 メカニカルストレス

1. 研究開始当初の背景

運動による健康増進効果は多岐にわたる。その効果は統計学的に証明されているが、分子メカニズムには不明な点が多い。これは運動が複数の要素（血流増加、エネルギー消費の亢進、骨格筋の収縮・弛緩など）から構成され、どの要素が運動効果をもたらすのかが分かっていないことが原因のひとつと考えられる。

運動時には、身体局所には変形や内圧変化が生じるので、その部の細胞に物理的力刺激（メカニカルストレス）が加わる。メカニカルストレスは細胞で感知され細胞内シグナルへの変換を介して、その細胞の機能を制御するが、運動により身体局所に生じるメカニカルストレスが身体機能の維持・改善にどのように作用するのかは十分に分かっていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、運動で生じる身体局所へのメカニカルストレスを再現する介入にて、運動効果を再現し、その背景にある分子メカニズムを明らかにすることとした。

3. 研究の方法

当初の計画では、運動による健康増進効果のひとつである変形性膝関節症の改善に着目し、変形性膝関節症に対する代表的な運動である大腿四頭筋等尺性収縮で生じるメカニカルストレスを再現する介入にて、変形性膝関節症の改善効果を再現できるかを検証する予定であった。そこで、大腿四頭筋等尺性収縮時に生じると想定されるメカニカルストレスをマウス膝関節に印加するための介入機器を開発した。しかしながら、その介入機器で生じる関節内メカニカルストレスを測定する過程で技術的な問題があることが明らかとなり、研究の遂行に遅滞が生じた。研究期間内の成果を最大限とするために、変形性膝関節症に対する運動効果をメカニカルストレスで再現する研究の一環として、変形性膝関節症のリスクファクターのひとつである高血圧症に対するメカニカルストレス介入実験を併せて行った。

4. 研究成果

1) 変形性膝関節症に対するメカニカルストレス介入の効果検証

1-A) 大腿四頭筋等尺性収縮で膝関節に生じるメカニカルストレスを再現するための介入機器の開発

変形性膝関節症に対する代表的な運動である大腿四頭筋等尺性収縮は、筋力増強に伴う膝関節の安定化という生体力学的環境の改善によって膝への負担が減り、痛みが軽減することが想定されてきた。しかし、大腿四頭筋等尺性収縮による変形性膝関節症の疼痛軽減は筋力増大を介さないという報告があり（黒澤ほか、**雑誌整形外科**.1991）、その効果は筋力増強だけでは説明できず、その動作により生じるメカニカルストレスに意味があることが示唆される。大腿四頭筋等尺性収縮で膝関節に生じるメカニカルストレスとして膝関節内圧の周期的上昇が想定される。

そこで、マウス膝関節を周期的に圧迫することで内圧変化を生じさせる機器（**図1**）を開発した。この機器を用いた介入で生じる膝関節内圧の測定を試みたが、市販の圧センサーでは関節内腔に対してセンサーが大きく、関節内への導入が困難であることがわかった。改善策を模索したが、本研究期



図1. 周期的マウス膝関節加圧実験系
カフに送気・脱気することで、マウス膝関節を周期的に圧迫する。

間内に有効な方法の確立には至らなかった。そこで、前述のように、研究期間内の成果を最大限とするために、変形性膝関節症のリスクファクターのひとつであり、運動による改善効果が報告されている高血圧症に対するメカニカルストレス介入実験を併せて行った。

2) 高血圧症に対するメカニカルストレス介入の効果検証

2-A) 走行運動時の頭部に生じるメカニカルストレスを再現するための機器の開発

高血圧症の原因のひとつとして、脳幹部の頭側延髄腹外側野 (RVLM) におけるアンジオテンシン II に対する感受性亢進が報告されている。さらに、運動による高血圧改善には RVLM におけるアンジオテンシン II 感受性亢進の抑制が関与することが明らかとなっている (Kishi et al. *Hypertension* 2010)。その一方で、アンジオテンシン II の受容体であるアンジオテンシン II タイプ I 受容体 (AT1R) はメカニカルストレスに反応するメカノレスポンス分子として報告されている (Zou et al. *Nat Cell Biol* 2004)。そこで、運動による高血圧改善効果には、運動により頭部に生じるメカニカルストレスを介した AT1R シグナリングの制御が関与するという仮説を立てた。この仮説を検証するために、ラットを用いた実験で適度な運動として用いられ、高血圧改善効果も確認されている中速度トレッドミル走行時に頭部の上下方向に加わる衝撃 (加速度: 約 1 G) を再現する (受動的頭部上下動) ための機器を開発した (図 2)。

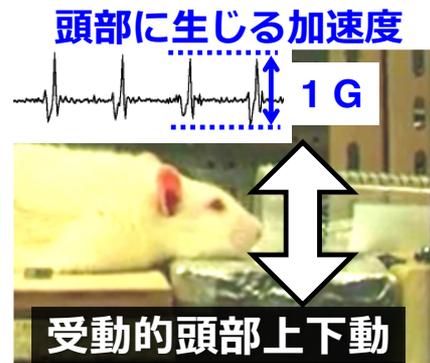


図 2. 受動的頭部上下動
中速度トレッドミル走行時に頭部に生じる上下方向の衝撃 (約 1 G) を再現する。

2-B) 受動的頭部上下動介入による高血圧改善効果

本態性高血圧症モデルラットに対する受動的頭部上下動介入 (30 分/日、毎日、4 週間) は、中速度トレッドミル走行と同様に高血圧を改善した (図 3)。また、RVLM におけるアンジオテンシン II 感受性亢進による高血圧の病態には交感神経の過活動が関与することが報告されていたため、受動的頭部上下動が交感神経活性に及ぼす影響を検討した。交感神経活性の指標として測定した尿中ノルエピネフリン排泄量は、受動的頭部上下動 (30 分/日、毎日、4 週間) により、有意に減少した。

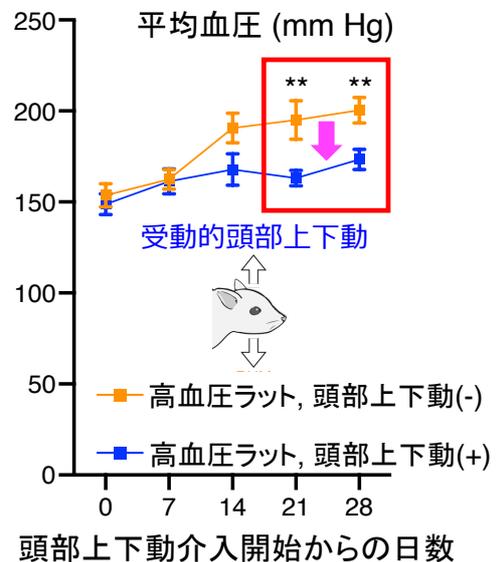


図 3. 本態性高血圧ラットに対する受動的頭部上下動による高血圧改善効果
受動的頭部上下動介入 (30 分/日、毎日、4 週間) は、本態性高血圧ラットの平均血圧を有意に改善した。

2-C) 受動的頭部上下動介入による RVLM における AT1R の発現抑制効果

組織学的解析の結果、本態性高血圧症モデルラットに対する受動的頭部上下動介入 (30 分/日、毎日、4 週間) は、RVLM ニューロンにおける AT1R 発現は抑制しない一方で、RVLM アストロサイトにおける AT1R 発現は抑制することがわかった。

2-D) 受動的頭部上下動介入による高血圧改善効果の背景にある分子メカニズム

受動的頭部上下動により生じる脳内メカニカルストレスの測定・推定実験や培養細胞メカニカルストレス実験などを行い、受動的頭部上下動による高血圧改善効果の分子メカニズムを検討した。その結果、受動的頭部上下動はRVLMの間質液流動を促進し、それに伴い生じる流体せん断力がアンジオテンシン II 受容体の発現を抑制するという力学的な細胞機能制御によるメカニズムが明らかとなった (図4)。

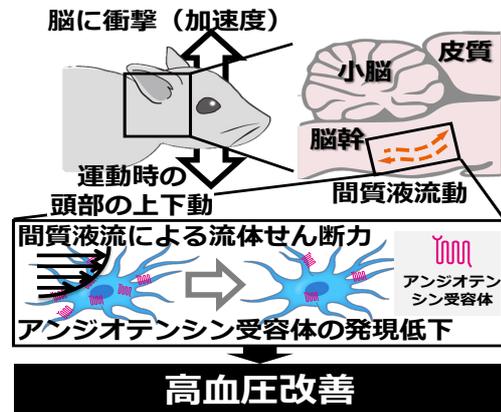


図 4. 受動的頭部上下動による高血圧改善効果の分子メカニズム

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 2件）

1. 著者名 Murase S, Sakitani N(Co-first author), Maekawa N, Yoshino D, Takano K, Konno Y, Hirai H, Saito T, Tanaka S, Shinohara K, Kishi T, Yoshikawa Y, Sakai T, Ayaori M, Inanami H, Tomiyasu K, Takashima A, Ogata T, Tsuchimochi H, Sato S, Saito S, Yoshino K, Matsuura Y, Funamoto K, Ochi H, Shinohara M, Nagao M, Sawada Y.	4. 巻 in press
2. 論文標題 Interstitial fluid shear stresses induced by vertically oscillating head motion lower blood pressure in hypertensive rats and humans	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nature Biomedical Engineering	6. 最初と最後の頁 未定
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Maekawa T, Sakitani N(Co-first author), Ryu Y, Takashima A, Murase S, Fink J, Nagao M, Ogata T, Shinohara M, Sawada Y.	4. 巻 181
2. 論文標題 Application of passive head motion to generate defined accelerations at the heads of rodents	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Jornal of Visualized Experiments	6. 最初と最後の頁 e63100
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3791/63100	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4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Sakitani N, Maekawa T, Yoshino D, Takano K, Kishi T, Shinohara K, Konno A, Hirai H, Sakai T, Yoshino K, Nagao M, Shinohara M, Sawada Y
2. 発表標題 Brain-targeted mechanical intervention with passive head motion can have an antihypertensive effect
3. 学会等名 Angiotensin Gordon Research Conference 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Sakitani N, Maekawa T, Yoshino D, Takano K, Shinohara K, Kishi T, Tomiyasu K, Ogata T, Tsuchimochi H, Saito S, Yoshino K, Funamoto K, Shinohara M, Nagao M, Sawada Y
2. 発表標題 Brain-targeted mechanical intervention using passive head motion can have an antihypertensive effect
3. 学会等名 American Heart Association Scientific Session 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Sakitani N, Maekawa T, Yoshino D, Takano K, Shinohara K, Kishi T, Tomiyasu K, Ogata T, Tsuchimochi H, Saito S, Yoshino K, Funamoto K, Shinohara M, Nagao M, Sawada Y
2. 発表標題 Brain-targeted mechanical intervention using passive head motion can be antihypertensive
3. 学会等名 International Society of Hypertension 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 崎谷直義、澤田泰宏、望月直樹
2. 発表標題 力学的刺激に着目した運動による高血圧改善効果の分子メカニズム解明と、それに基づいた臨床応用
3. 学会等名 6NCリトリート
4. 発表年 2023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
---------	---------