

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 6月 5日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(G)

研究期間：2010 ~ 2012

課題番号：22591653

研究課題名（和文）

作業関連上肢筋骨格系障害の発痛におけるMMPとPARの役割の解明

研究課題名（英文）

The role of MMP and PAR in the pain of the work-related upper limb musculoskeletal disorders

研究代表者

篠原 孝明 (SINOHARA TAKAAKI)

名古屋大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：00378209

研究成果の概要（和文）：

手根管症候群・狭窄性屈筋腱鞘炎などの作業関連性筋骨格系障害において、病初期に疼痛が強く、長期経過するとともに機能障害は悪化するが疼痛が軽減する傾向にあった。腱滑膜の病理所見では病初期において、PAR2のアゴニストである mast cell から放出される triptase が血管周囲に主に発現しておりそれと共に TNF α 、IL-6 などの cytokine も高発現している。疼痛にこれらの因子が関与している可能性が考えられた。経過と共に triptase の発現は低下するものの血管や間質の変化とともに VEGF は高値となる傾向を認めた。Mast cell triptase は作業関連性筋骨格系障害における滑膜の炎症や疼痛に重要な役割を果たしていると考えている。

研究成果の概要（英文）：

In work-related upper limb musculoskeletal disorders such as carpal tunnel syndrome and stenosing tenosynovitis, symptom duration correlated negatively with pain severity and positively with disability. In pathological finding of tenosynovium, mast cell triptase which is an agonist of PAR2 was mainly express around vessels. Mast cell triptase correlated positively with cytokines such as TNF- α and IL-6. We consider that these factors were involved in pain severity. The expression of triptase decreased and the expression of VEGF increased over the course of the disease. We think that mast cell triptase plays an important role in the inflammation of the tenosynovium and pain severity.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
2012年度	700,000	210,000	910,000
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学、整形外科学

キーワード：作業関連上肢筋骨格系障害、mast cell、triptase、PAR2、repeated minor trauma、VEGF、cytokine

1. 研究開始当初の背景

作業やスポーツ活動により上肢に加わる repeated minor trauma が難治性筋骨格系障害を引き起こすことに関して多くの議論がなされてきた。米国では成人の7%が筋骨格系障害を有し、その62%は作業関連性筋骨格系障

害であり、2兆円を超える医療費が費やされていると報告されている。このため1998年には政府主導で大規模なメタアナリシスが実施され、その結果手根管症候群、腱鞘炎、テニス肘などの発症に職場での repeated minor trauma が関与する高いエビデンスが確認さ

れた。一方で repeated minor trauma による筋骨格系障害のメカニズム、とりわけ疼痛発症機序に関する研究は遅々として進んでいないのが現状である

最近の研究により手根管症候群や腱鞘炎では腱滑膜組織に、テニス肘をはじめとする腱炎では筋腱において間質や血管壁に著しい変化が生じており、その際見られる collagen, elastin などの細胞外基質成分の異常な分解や Matrix Metalloproteinase (MMP) をはじめとする蛋白分解酵素や種々の cytokine が関与することが明らかになってきた。手根管症候群における腱滑膜のドラスチックな機能・構造上の変化はメイヨークリニックからも repeated minor trauma の結果であるとして最近盛んに報告されている。筋骨格系では変性が存在するのに痛みを訴えない無症候性変化の状況がしばしば観察され、発痛機序は謎に包まれてきた。近年、有痛性末梢神経損傷では神経幹内に TNF α が発現し MMP2 および MMP9 が産生されてドラスチックな組織改変を引き起こしていることが知られてきているが、今、ひとつの可能性は血管内皮や平滑筋を始め全身様々な組織に発現している Protease Activated Receptor (PAR) を介するものである。変形性関節症では interleukin 1 (IL1) や TNF α による PAR の活性上昇が MMP や cyclooxygenase (COX) の活性化を引き起こして炎症を惹起していることが明らかとなってきている。とりわけ PAR2 は炎症や組織損傷に伴って活性化され、またカプサイシン感受性神経に発現しているものは Transient Potential Receptor Vallinoid 1 (TRPV1) の興奮を引き起こし、種々の感覚過敏を引き起こす。

2. 研究の目的

我々は gelatinase の活性化と手根管症候群患者の疼痛の関係を調べたところ、MMP2 の活性化レベルが患者の疼痛と有意に相関することを見出し Journal of Pathology 誌に報告した。また、手根管症候群における血管病変には MMP2、VEGF、tenascin C が関与することを示したが、PAR2 は血管平滑筋に広く分布し、それにより誘導される MMP や cytokine が筋骨格系変性における発痛機序の key player である可能性が示唆される。PAR2 は mast cell から放出される triptase により活性化されるためさらにこの mast cell が手根管症候群や腱鞘炎などの筋骨格系障害において重要な役割を果たしている可能性がある。

本研究では摘出標本の解析での研究により、この仮説を総合的に検証し、作業関連筋骨格系障害である手根管症候群・狭窄性屈筋腱鞘炎において、PAR2 の trigger である mast cell より放出される triptase との関連や IL-6 や TNF- α など各種 cytokine、VEGF と血管病変・線維化などを評価することで各疾患

での疼痛や機能障害に関連する因子を検討することである。

3. 研究の方法

名古屋大学医学部附属病院の倫理委員会の承認を得た上で、患者の同意を得て作業関連筋骨格系障害の代表的疾患である手根管症候群・狭窄性屈筋腱鞘炎患者の手術時に得られる滑膜標本を採取し、同時に患者情報として年齢、性別、発症期間、既往歴(糖尿病・高血圧等)、狭窄性屈筋腱鞘炎の臨床的重症度 (Quinnell classification)、握力、ピンチ力、患者立脚型能力評価票である DASH (Disability of the Arm, Shoulder, and Hand) と HAND20、痛み評価として Visual analog scale を術前に調べた。

病理組織学的・生化学的検討として、患者から手術時に採取した腱滑膜の一部を 10%ホルマリンにて固定パラフィン包埋した、ヘマトキシリンエオジン染色による血管病変の評価をおこない、免疫組織化学染色にて活性化 mast cell の指標として tryptase、線維化の指標として type III collagen、血管新生の指標として VEGF、血管内皮細胞の指標として PECAM-1 (CD31) の発現を調べた。免疫組織化学染色は Roche 社製ベンタナベンチマーク自動免疫染色機を使用し、各種 1 次抗体は同社製の 1 次抗体を使用、I-viewDAB ユニバーサルキットにて行った。

また狭窄性屈筋腱鞘炎患者において採取した腱滑膜の一部は RNAlater に浸漬し -80°C で保存した。RNA を抽出し cDNA へ逆転写を行った後、Applied Biosystems (Foster City, CA) 社製 Taqman Gene Expression と各種 primer を使用し AB StepOne Real-time PCR System (Applied Biosystems 社製) を用い、Real-time PCR 法で mRNA を測定した。コントロール遺伝子として β -actin を使用した。mRNA は $\Delta\Delta$ CT 法により相対値を測定した。triptase、VEGF、TNF- α 、IL-6、IL1 β を調べた。

採取したデータは手根管症候群 56 例、狭窄性屈筋腱鞘炎 23 例であった。

4. 研究成果

(1) 手根管症候群・狭窄性屈筋腱鞘炎の重症度・罹病期間と上肢機能・疼痛

手根管症候群において発症期間が長期になると上肢機能は低下する傾向が見られたが痛みの強さは病初期の方がより強い傾向が認められた。狭窄性屈筋腱鞘炎に関しても病初期がより疼痛は強く、病期が進行すると共に疼痛は軽減していったが、上肢機能は低下する傾向が認められた (図 1)。

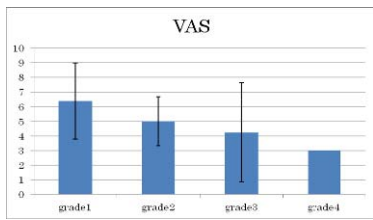


図1 狭窄性屈筋腱鞘炎における病期と疼痛

(2)線維化と血管病変の評価

手根管症候群において、type III collagen の発現が発症早期と比較し晚期に多く発現が見られ線維化が著明であった。または発症晚期における血管病変として血管新生・血栓による血管閉塞・血管新生が見られた(図1・2)。狭窄性屈筋腱鞘炎においても同様な傾向が認められた(図3: CD31 による血管内皮染色)。

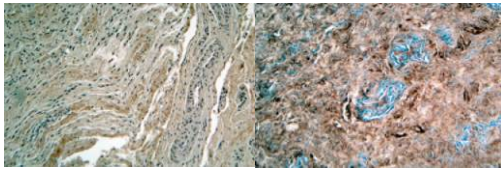


図1 手根管滑膜 type III collagen 染色
左: 手根管症候群発症早期 右: 手根管症候群晚期

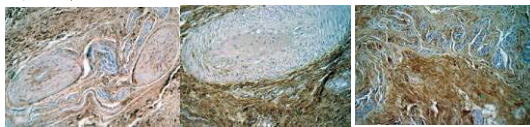


図2 手根管症候群発症晚期における血管病変・血管新生
左: 血管肥大 中: 血栓による血管閉塞 右: 血管新生

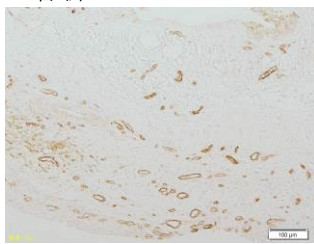


図3 狭窄性屈筋腱鞘炎 CD31 染色

(3)腱滑膜において mast cell の指標である tryptase の発現は主に血管周囲に存在しており、それは手根管症候群・狭窄性屈筋腱鞘炎共にみられる傾向であった(図4)。手根管症候群において tryptase の発現が多いと痛みの程度は強くなる傾向が認められた。しかし上肢機能においては tryptase の発現が多くなるとむしろ低下する傾向が見られた(図5・6)。

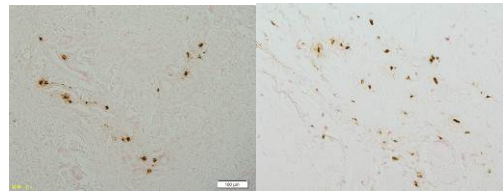


図4 腱滑膜 tryptase 染色
左: 手根管症候群 右: 狭窄性屈筋腱鞘炎

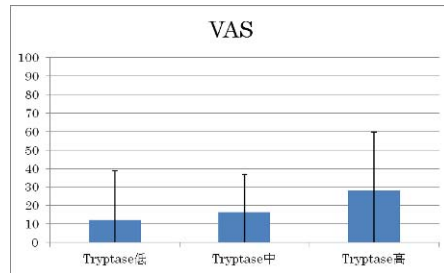


図5 手根管症候群 tryptase の発現と痛み

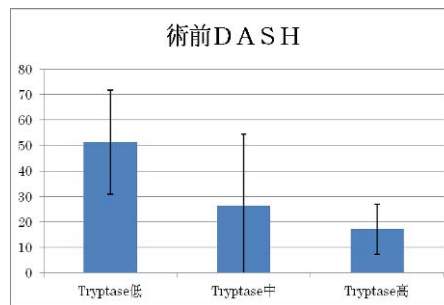


図6 手根管症候群 tryptase の発現と上肢機能

(4) VEGF においても同様に血管周囲への発現が主に見られており tryptase との関連が示唆された。VEGF は発症初期には発現が少なく発症が長期になるほど強く発現が見られた。痛みや上肢機能との関連は特に認めなかった(図7)。

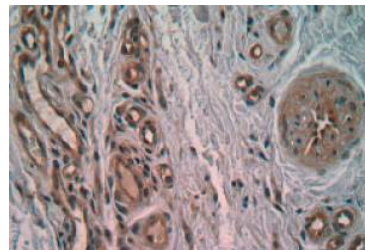


図7 手根管滑膜 VEGF 染色

(5) 狭窄性屈筋腱鞘炎の腱滑膜における tryptase・VEGF・TNF- α ・IL-6・IL-1 β m-RNA の発現

tryptase は比較的病初期に多く発現してお

り TNF- α 、IL-6 に関しては同様の傾向を示していた。VEGF に関しては病初期よりも病期が進行した場合に発現が多い傾向を示していた(図 8)。

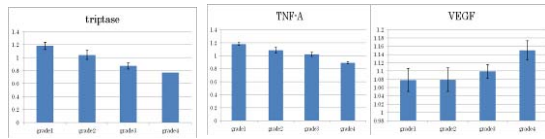


図 8 狭窄性屈筋腱鞘炎腱滑膜の mRNA 発現
左: triptase 中: TNF- α 右: VEGF

Mast cell は慢性免疫疾患をはじめとする様々な炎症性疾患において重要な役割を果たしていると考えられているが、手根管症候群や狭窄性屈筋腱鞘炎においても tryptase が病初期から血管周囲に多く発現しておりその炎症のトリガーとして各種 cytokine を誘導し、VEGF を介し新生血管の促進や以前我々の報告した病初期に MMP2 の発現が血管壁・滑膜表層に多いという結果からも MMP の発現にも関与している可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計 9 件)

- ① 太田 英之, 浦野 秀樹, 新井 哲也, 岩月 克之, 夏目 唯弘, 栗本 秀, 山本 美知郎, 平田 仁, 石黒 直樹、新規複合性局所疼痛症候群モデルにおける神経成長因子発現についての検討 第 27 回日本整形外科学会基礎学術集会、2012/10/26-27、名古屋(名古屋国際会議場)
- ② 倉橋 俊和, 篠原 孝明, 建部 将広, 山本 美知郎, 太田 英之, 平田 仁、上肢慢性疼痛患者におけるプレガバリンの効果-患者立脚型上肢機能評価票 Hand20 を用いて、第 23 回日本末梢神経学会、2012/8/31-9/1、福岡(九州大学医学部百年講堂)
- ③ 太田 英之, 浦野 秀樹, 新井 哲也, 岩月 克之, 山本 美知郎, 澁 真悟, 平田 仁、複合性局所疼痛症候群における難治性疼痛及び関節拘縮発生要因についての検討、第 23 回日本末梢神経学会、2012/8/31-9/1、福岡(九州大学医学部百年講堂)
- ④ 岩月 克之, 太田 英之, 加藤 宗一, 夏目 唯弘, 新井 哲也, 栗本 秀, 山本 美知郎, 建部 将広, 篠原 孝明, 平田 仁、ラット坐骨神経損傷に対する TNF α 阻害薬の神経再生および疼痛への効果、第 23 回日本末梢神経学会、2012/8/31-9/1、福岡(九州大学医学部百年講堂)

- ⑥ 太田 英之, 新井 哲也, 山本 美知郎, 澁 真悟, 平田 仁、複合性局所疼痛症候群(CRPS)類似モデルにおける難治性拘縮発生要因についての検討、第 55 回日本手外科学会、2012/4/19-20、横浜(パシフィコ横浜)
- ⑦ 鈴木 実佳子, 水村 和枝, 村瀬 詩織, 平田 仁、ラット神経損傷モデルにおける筋機械痛覚過敏と神経成長因子の関与、第 55 回日本手外科学会、2012/4/19-20、横浜(パシフィコ横浜)
- ⑧ 夏目 唯弘, 倉橋 俊和, 西塚 隆伸, 山本 美知郎, 平田 仁、糖尿病絞扼性神経障害ラットに対するプロスタグランディン E1 の効果、第 55 回日本手外科学会、2012/4/19-20、横浜(パシフィコ横浜)
- ⑨ Tadahiro Natsume, Takanobu Nishizuka, Hideyuki Ota, Michiro Yamamoto, Hitoshi Hirata、Effect of Prostaglandin E1 on entrapment neuropathy of diabetic rats. 58th Orthopaedic Research Society、2012/2/4-7、San Francisco, USA (Moscone West Convention Center)
- ⑩ 平田 仁、Entrapment neuropathy 病態に基づく治療戦略、第 44 回中国・四国整形外科学会、2011/11/19、松山(松山市総合コミュニティセンター)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

篠原 孝明(SHINOHARA TAKAAKI)
名古屋大学・医学部附属病院・助教
研究者番号: 00378209

(2) 研究分担者

平田 仁(HIRATA HITOSHI)
名古屋大学・医学系研究科・教授
研究者番号: 80173243

建部 将広(TATEBE MASAHIRO)
名古屋大学・医学部附属病院・講師
研究者番号: 60420379

山本 美知郎(YAMAMOTO MICHIRO)
名古屋大学・医学部附属病院・病院助教
研究者番号: 90528829

奥井 伸幸(OKUI NOBUYUKI)
名古屋大学・医学部附属病院・病院助教
研究者番号: 70547554

(3) 連携研究者なし

(4) 研究協力者

夏目 唯弘(NATSUME TADAIRO)

名古屋大学・医学部附属病院・病院助教
研究者番号：30624316
(H24 より)