

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 24 年 3 月 31 日現在

機関番号：14101  
 研究種目：若手研究（B）  
 研究期間：2010～2011  
 課題番号：22791373  
 研究課題名（和文）光線療法を用いた腱細胞の修復再生促進効果の研究  
 研究課題名（英文）The Cell Proliferation Effect by Phototherapy for in Tenocytes

研究代表者  
 里中 東彦（SATONAKA HARUHIKO）  
 三重大学・医学部附属病院・助教  
 研究者番号：60515485

研究成果の概要（和文）：損傷腱修復促進の戦略の 1 つとして腱細胞の増殖が考えられ、ラットアキレス腱細胞に対するキセノンストロボ光照射により有意な細胞増殖効果が得られ、増殖した細胞の I 型コラーゲン産生能および腱特異的タンパク産生能が確認された。

研究成果の概要（英文）：A xenon FWL irradiation promoted cell proliferation of tenocytes derived from rat Achilles tendons in vitro study. This technique has a possibility of the widely application to tendon healing and regeneration with tissue engineering.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2011 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2600,000	780,000	3,380,000

研究分野：整形外科

科研費の分科・細目： 外科系臨床医学・整形外科

キーワード：腱，光線療法

1. 研究開始当初の背景

腱は栄養血管が乏しく、細胞密度の低い組織であるため、一旦損傷されると機能的、生体力学的に十分に再生させることは困難である。近年、レーザーや LED などの光照射による組織修復促進効果が報告され臨床応用が進んでおり、腱組織においても同様の効果が期待される。

2. 研究の目的

①研究代表者の里中がこれまで研究してきたアクリジンオレンジを用いた光線力学的診断および光線力学的療法の技術を応用し、損傷腱の組織再生修復促進技術の開発を試みる。

②ラットアキレス腱由来の腱細胞におけるキセノンストロボ光照射による細胞増殖効果について検討した。

3. 研究の方法

①ラットアキレス腱から細胞を分離培養した後、蛍光免疫染色により I 型コラーゲンの発現を観察した。

②その細胞を使用して、光照射なし (C) 群、10 分間の光照射×1 日 (IR-10) 群、10 分間の光照射×4 日 (IR-40) 群の 3 群で、初回光照射後 8, 24, 48, 72 時間で MTS 法により細胞増殖率を検討した。

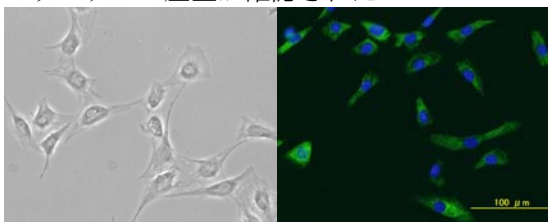
③光照射なし(C)群, 1 分間の光照射(IR-1)群, 10 分間の光照射(IR-10)群の 3 群で, 光照射後 72 時間の培養上清中の腱特異的タンパクである scleraxis を Western blotting により半定量的に解析した.

④上記(2)の 3 群で, 72 時間後に培養上清を採取して TBARS 法にて酸化ストレスマーカーである Malondialdehyde (MDA) 濃度を測定した.

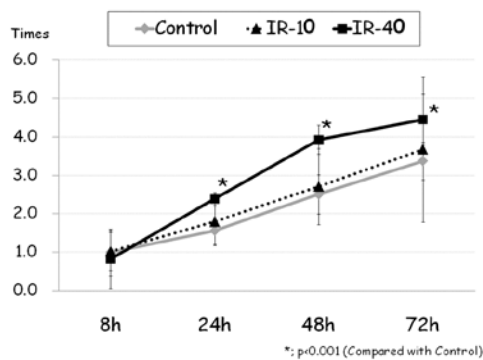
⑤光照射はキセノンストロボ光照射を用いて行った.

#### 4. 研究成果

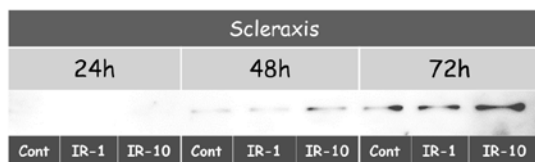
①蛍光免疫染色ではほぼすべての細胞で I 型コラーゲンの産生が確認された.



②IR-40 群の細胞増殖率は 48 時間以降で C 群に比較して有意に高くなっていた ( $p < 0.01$ ). IR-10 群と C 群では IR-10 群で高い傾向にあったが有意差は認められなかった.



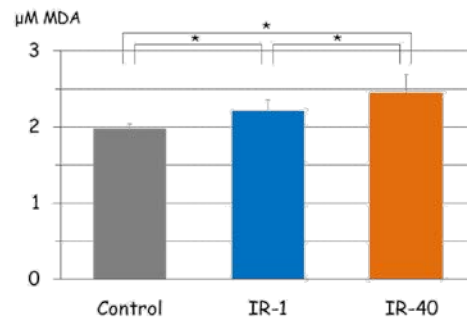
③scleraxis は IR-1 群, IR-10 群とも C 群に比較して強く発現しており, 特に IR-10 群では顕著であった.



④MDA 濃度は IR-10, IR-40 の両群とも C 群に比し有意に高くなっていた (\*:  $p < 0.001$ ). 細胞活動により活性酸素種が生成されるため, MDA 濃度の増加により細胞活性の亢進が

示唆された.

今回の結果から, 腱細胞の増殖においてキセ



ノンストロボ光照射が有効であ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)

[雑誌論文] (計 11 件)

- ① 里中東彦, 辻井雅也, 植村和司, 堀和一郎, 植村剛, 須藤啓弘. 鎖骨遠位端骨折に対する手術成績. 中部日本整形外科災害外科学会雑誌. 55: 167-8, 2012, 査読有.
- ② Satonaka H, Kusuzaki K, Akeda K, Tsujii M, Iino T, Uemura T, Matsubara T, Nakamura T, Asanuma K, Matsumine A, Sudo A. Acridine orange inhibits pulmonary metastasis of mouse osteosarcoma. Anticancer Res. 31: 4163-8, 2011, 査読有.
- ③ 里中東彦, 辻井雅也, 植村和司, 堀和一郎, 植村剛, 須藤啓弘. 母指 CM 関節症に対する長母指外転筋腱を用いた関節形成術の治療経験. 中部日本整形外科災害外科学会雑誌. 54: 1071-2, 2011, 査読有.
- ④ 里中東彦, 辻井雅也, 平田仁, 内田淳正, 須藤啓弘. de Quervain 病の術後に認めた癒着性神経障害に橈骨動脈穿通枝脂肪弁を用いた 1 例. 日本マイクロサージャリー学会会誌. 24: 304-8, 2011, 査読有.
- ⑤ 里中東彦, 辻井雅也, 飯田竜, 平田仁, 須藤啓弘. Semi-constrained Total Elbow Arthroplasty の治療経験. 日本手外科学会雑誌 27: 472-476, 2011, 査読有.

- ⑥ Satonaka H, Hara Takahisa, Shintani K, Morimoto T, Nishimoto K, Higuchi H, Urawa M, Sudo A. Traumatic anterior dislocation of the hip in adolescents while playing sports: a report of two patients. *Current Orthopaedic Practice* 21: 632-63, 2010, 査読有.
- ⑦ Satonaka H, Hamaguchi T, Wakabayashi T, Urawa M, Inada H, Takegami K, Matsumine A, Uchida A. Diffuse skeletal muscle metastasis from gastric cancer similar to inflammatory disease: a report of two patients. *Current Orthopaedic Practice* 21: 310-314, 2010, 査読有.
- ⑧ Satonaka H, Kusuzaki K, Matsubara T, Shintani K, Nakamura T, Matsumine A, Iino T, Uchida A. In vivo antitumor effect of photodynamic therapy with acridine orange using flash wave light on mouse osteosarcoma. *Oncology Letters* 1: 69-72, 2010, 査読有.
- ⑨ 里中東彦, 植村和司, 倉田竜也, 辻井雅也, 武田裕子, 須藤啓弘. 高齢者大腿骨近位部骨折の検討-60~89歳と90歳以上高齢者の比較. *整形外科* 61: 961-965, 2010, 査読有.
- ⑩ 里中東彦, 辻井雅也, 長谷川正裕, 若林弘樹, 平田仁, 須藤啓弘. 半拘束型人工肘関節置換術の治療成績. *中部整災誌* 53: 1279-1280, 2010, 査読有.
- ⑪ 里中東彦, 笠井裕一, 松峯昭彦, 中村知樹, 濱口貴彦, 内田淳正. 長管骨病的骨折に対する超弾性形状記憶合金製髓内釘の臨床応用. *中部整災誌* 53: 669-670, 2010, 査読有.

[学会発表] (計 11 件)

- ① Satonaka H, Tsujii M, Iino T, Uemura T, Hori K, Kusuzaki K, Sudo A. Enhancement of cell proliferation by irradiation using xenon flash light in tenocytes derived rat achilles tendon. *Orthopaedic Research Society 2012 Annual Meeting*. 2012年2月6-7日, San Francisco.
- ② Satonaka H, Kusuzaki K, Akeda K, Tsujii M, Iino T, Nakamura T, Matsubara T, Asanuma K, Matsumine A, Sudo A. Acridine orange inhibits pulmonary metastasis and invasion on mouse

osteosarcoma. *Orthopaedic Research Society 2012 Annual Meeting*. 2012年2月4-5日, San Francisco.

- ③ 里中東彦, 辻井雅也, 植村剛, 村田久美子, 堀和一郎, 須藤啓弘. 下肢リンパ浮腫に対するリンパ管静脈吻合術後の客観的評価と患者立脚型評価の比較検討. 第38回日本マイクロサージャリー学会学術集会. 2011年11月11日, 新潟市.
- ④ 里中東彦, 辻井雅也, 飯田竜, 堀和一郎, 植村剛, 長谷川正裕, 飯野隆大, 松峯昭彦, 楠崎克之, 須藤啓弘. Dupuytren 拘縮における nodules 由来腱膜細胞に対するアクリジンオレンジ光線力学的療法の殺細胞効果. 第26回日本整形外科学会基礎学術集会. 2011年10月21日, 前橋市.
- ⑤ 里中東彦, 辻井雅也, 飯野隆大, 堀和一郎, 植村剛, 平田仁, 須藤啓弘. ラットアキレス腱由来腱細胞に対するキセノンストロボ光照射による細胞増殖促進効果の検討. 第54回日本手外科学会学術集会. 2011年5月, Web.
- ⑥ 里中東彦, 辻井雅也, 長谷川正裕, 若林弘樹, 吉田格之進, 平田仁, 須藤啓弘. 半拘束型人工肘関節置換術の検討. 第23回日本肘関節学会. 2011年2月26日, 東京.
- ⑦ 里中東彦, 辻井雅也, 長谷川正裕, 若林弘樹, 吉田格之進, 平田仁, 須藤啓弘. 半拘束型人工肘関節の治療成績. 第41回日本人工関節学会. 2011年2月25日, 東京.
- ⑧ Satonaka H, Tsujii M, Uemura K, Hori K, Uemura T, Uchida A, Sudo A. Arthroscopy of thumb MP joint: surgical technique for ulnar collateral ligament (UCL) injuries. *American Academy of Orthopaedic Surgeons 2011 Annual Meeting*. 2011年2月18日, San Diego.
- ⑨ 里中東彦, 辻井雅也, 堀和一郎, 植村剛, 岩本陽一, 杉村芳樹, 須藤啓弘. 難治性感染に対する LCFA 下行枝による筋皮弁の有用性. 第37回日本マイクロサージャリー学会学術集会. 2010年11月18日, 名古屋市.
- ⑩ 里中東彦, 辻井雅也, 堀和一郎, 飯野隆大, 飯田竜, 楠崎克之, 須藤啓弘. ラットアキレス腱由来線維芽細胞に対するキ

セノンストロボ光照射による細胞増殖促進効果. 第 25 回日本整形外科学会基礎学術集会. 2010 年 10 月 15 日, 京都市.

- ⑪ 里中東彦, 明田浩司, 辻井雅也, 飯野隆大, 中村知樹, 松原孝夫, 淺沼邦洋, 松峯昭彦, 楠崎克之, 湊藤啓広. アクリジンオレンジはマウス骨肉腫の肺転移を抑制する. 第 25 回日本整形外科学会基礎学術集会. 2010 年 10 月 14 日, 京都市.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

里中 東彦 (SATONAKA HARUHIKO)

三重大学・医学部附属病院・助教

研究者番号 : 60515485