

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 18 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592228

研究課題名(和文)疾患モデルマウスを用いた狭窄性腱鞘炎の病態解析

研究課題名(英文)Elucidation of pathological condition of tenosynovitis with disease model mouse

研究代表者

林 正徳 (HAYASHI, Masanori)

信州大学・学術研究院医学系・助教

研究者番号：20624703

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：狭窄性腱鞘炎は一般に更年期や周産期の女性、糖尿病患者に発症する事が多い疾患であるが、その発症機序は未だ不明である。我々は老化モデルマウスと糖尿病モデルマウスを用いて、狭窄性腱鞘炎の病態解明を試みた。遺伝子発現解析の結果、老化モデルマウスにおいては滑膜内腱における腱関連マーカーの発現が加齢とともに減少しており、逆に軟骨関連マーカーの発現が高くなっていた。一方、糖尿病モデルマウスにおいては、明らかな変化を検出することはできなかった。本研究により得られた結果は、加齢に伴い潜在的に進行する腱組織から軟骨組織への遺伝子発現レベルでのシフトが腱鞘炎発症の原因の一つとなっている事を示唆するものであった。

研究成果の概要(英文)：Tenosynovitis is common disorder in menopausal or perinatal women and diabetic patients. However, little is known about the pathogenic mechanism of tenosynovitis. We tried to clarify the pathogenesis of tenosynovitis with senescence-model mouse and diabetic model mouse. Gene expression analysis of senescence-model mouse showed that the expression of tenogenic marker in intrasynovial tendon decreased, while the expression of chondrogenic marker increased with aging. On the other hand, we could not find any difference in diabetic model mouse. Our results suggest that the shift of gene expression from tendon to cartilage, potentially developing with aging, is one of the causes of the pathogenesis of tenosynovitis.

研究分野：整形外科

キーワード：狭窄性腱鞘炎 老化 糖尿病 滑膜内腱 腱細胞 軟骨細胞 軟骨化生 Lubricin

### 1. 研究開始当初の背景

手指の弾発指やドゥケルバン病などの狭窄性腱鞘炎は整形外科の日常診療において頻繁に見られる疾患である。1年間で10万人に28例が発症すると言われ、一生のうち発症する可能性は2.6%である。好発年齢は40から60歳で女性に多い。したがって日本国内だけでも年間4万例弱が発症することになる。通常これらの疾患に対しては腱鞘内へのステロイドの局所注射や腱鞘切開等による手術治療が行われており、予後は比較的良好である。しかし、局所注射後の腱断裂例、腱鞘切開術後の関節拘縮例、多数指例、術後の再発例などでは、複数回の手術を余儀なくされる場合もある。狭窄性腱鞘炎は一般に女性、特に更年期や周産期の女性、手指作業者、糖尿病患者に発症する事が多く、糖尿病患者の場合は20~50%に手指に合併するという報告もある。また多数指発症の場合は手根管症候群を合併する事も多い。閉経、妊娠などによるホルモンの不均衡や手指の過度使用による機械的刺激、老化などが原因と考えられているが、その発症機序は未だ不明である。今後人口の高齢化、食生活の欧米化に伴う糖尿病の罹患率の上昇等により、狭窄性腱鞘炎の患者数はますます増加するものと考えられ、詳細な病態解析に基づいた疾患の予防法や新しい治療法の開発が望まれる。

狭窄性腱鞘炎の病態は、腱とそれを取り囲む腱鞘に生じる炎症とされているが、病理学的には炎症所見よりも変性所見が認められることが多い。実際に弾発現象を伴う狭窄性腱鞘炎では、線維性腱鞘や腱自体に肥厚が認められることが多く、腱鞘と屈筋腱の組織学的な検討により、両組織に軟骨化生を認めたとの報告もなされている。

Lubricin は関節液中に存在し関節の滑走を促進する働きがある蛋白として同定され、屈筋腱の表面にも存在している事が報告されている。我々はこれまでに Lubricin ノックアウトマウスの滑膜内腱の解析を行い、組織学的に腱表面のエピテノンの構造が消失し、(図1)腱鞘滑膜の増殖や腱鞘の肥厚、腱・腱鞘内の軟骨化生を認めること、(図2)さらに正常マウスと比較して有意に腱・腱鞘間の摩擦が増加することを発見した。(図3)

本結果は狭窄性腱鞘炎の発症に Lubricin が関与することを示唆するものであるが、その病態はより複雑であることが予想され、実際には他の様々な因子が関与しているものと考えられる。

### 2. 研究の目的

本研究は狭窄性腱鞘炎の要因の一つと考えられる加齢と糖尿病に焦点をあて、先行研究の方法を老化モデルマウスや糖尿病モデルマウスに応用し、狭窄性腱鞘炎の病態解明、さらには新しい治療法の開発へと結びつく研究基盤を確立することを目的とする。

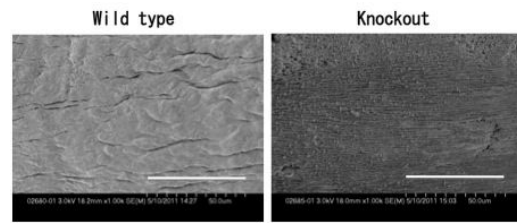


図1 Lubricinノックアウトマウスでは腱表面のエピテノンが消失している

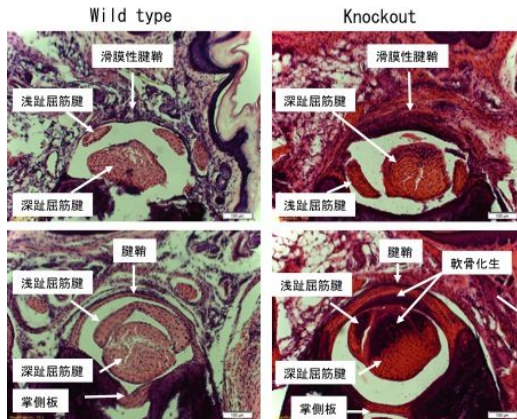


図2 Lubricinノックアウトマウスでは滑膜の増殖、腱鞘の肥厚、腱と腱鞘内に軟骨化生を認める

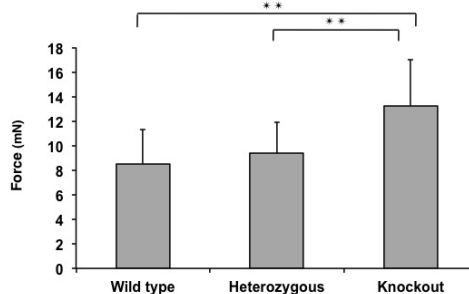


図3 ルブリシンノックアウトマウスでは腱と腱鞘間の摩擦が増加する

### 3. 研究の方法

実験には老化モデルマウス(SAMP6 マウス)と糖尿病モデルマウス(db/db マウス)を用いた。SAMP6 マウスは早期老化と単寿命を示し、低骨密度を呈することから骨粗鬆症のモデルマウスとしても知られている。db/db マウスは3-4 週齢より肥満症状、4-8 週齢で血糖値が急増し、一般的には 型糖尿病モデルマウスとして研究に用いられている。本研究では、まず両マウス後肢の横断面の標本を作成し、HE 染色にて滑膜内腱およびその周辺組織を観察し、それぞれのコントロールマウスと比較した。続いて各モデルマウスの滑膜内腱における遺伝子発現の特徴を調べる目的で、8, 24 週齢の SAMP6 マウス、15, 20 週齢の db/db マウス各 10 匹の後肢第 2~4 趾より長趾屈筋腱を採取、リアルタイム RCR により腱関連マーカーと軟骨関連マーカー、Lubricin の発現を定量し、それぞれのコントロールマウスと比較した。遺伝子発現解析の結果、発現量の変化の大きかったマーカーについては、さら

に免疫組織学的に解析を行った。

#### 4. 研究成果

HE 染色による組織学的解析では、各モデルマウスのいずれの週齢数においても、Lubricin ノックアウトマウスで認めたような明らかな組織学的変化は確認できなかった。

老化モデルマウスの滑膜内腱の遺伝子発現解析では、腱細胞の転写因子である Scleraxis と Mohawk はコントロールマウス、SAMP6 マウスともに 24 週齢で増加傾向を認めしたが、明らかな有意差はなかった。また腱細胞のマーカーである Tenomodulin と type I collagen の発現量は 24 週齢で有意に減少していた。(図 4)軟骨細胞の分化に重要な Sox9 と Sox6 はコントロールマウス、SAMP6 マウスともに 24 週齢で増加傾向を認め、SAMP6 マウスにおいて有意に発現が高かった。また Sox5、Aggrecan は 8 週齢で SAMP6 において有意に発現が高く、コントロールマウスでは 24 週齢で発現が増加した。(図 5)Type II collagen はいずれの週齢数においても SAMP6 マウスにおいて発現が高く、24 週齢で減少傾向を示した。また Lubricin については、コントロールマウスでは加齢に伴い増加傾向を示したが、SAMP6 マウスでは逆に減少傾向を示した。一方、糖尿病モデルマウスについても、同様の解析を行ったが、老化モデルマウスで認められたような、明らかな遺伝子発現の変化を検出することはできなかった。

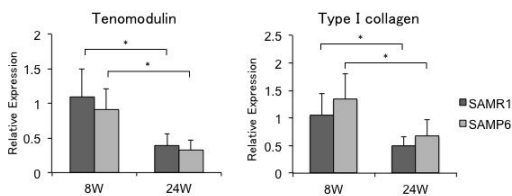


図4 加齢にともなう腱関連マーカーの発現低下

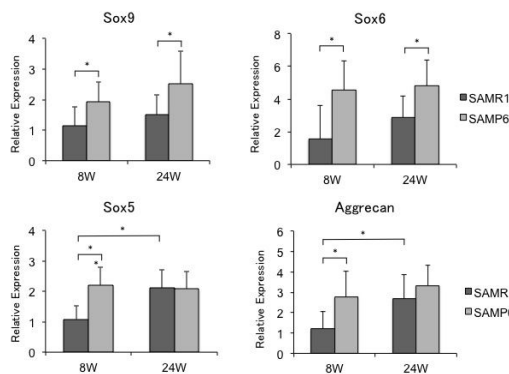


図5 加齢にともなう軟骨関連マーカーの発現上昇

遺伝子発現解析の結果、変化が観察された老化モデルマウスについて、さらに免疫組織学的解析を行ったところ、24 週齢の SAMP6 マウスにおいて Tenomodulin の発現が著明に減少しており、特にエンドテノンにおいてその変化が強かった。(図 6) また Aggrecan は両マウスとも加齢に伴いエンドテノンにおけ

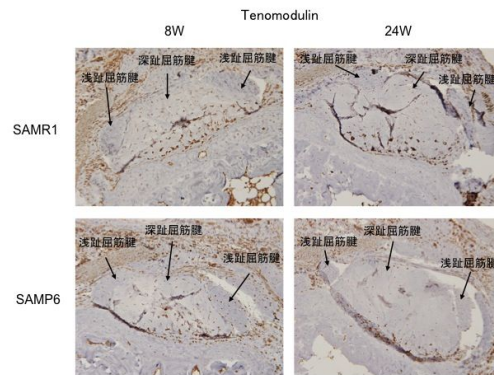


図6 老化モデルマウスではエンドテノン内のTenomodulinの発現が低下している

る発現量が減少し、逆に腱の背側部分ではわずかに増加傾向を認めた。さらに二重染色による腱内部の細胞局在の解析も試みたが、十分な至適条件が得られず、評価可能な結果を得ることはできなかった。

以上、老化モデルマウスによって得られた結果は、Lubricin ノックアウトマウスを用いた先行実験の結果や、狭窄性腱鞘炎患者の腱鞘と屈筋腱に軟骨化生を認めたとする過去の報告と一致するものであり、加齢に伴い潜在的に進行する腱組織から軟骨組織への遺伝子発現レベルでのシフトが腱鞘炎発症の原因の一つとなっている事を示唆するものであった。

#### 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2件)

Masanori Hayashi, Shigeharu Uchiyama, Kazutaka Uemura, Masatoshi Komatsu, Hiroyuki Kato, Age-related Changes in Mouse Intrasyneovial Tendons, Orthopaedic Research Society 2015 Annual meeting, 2015.3.28-31, Las Vegas, USA

林正徳、内山茂晴、植村一貴、小松雅俊、加藤博之、マウス腱鞘内腱の加齢に伴う遺伝子発現の変化、第 29 回日本整形外科学会基礎学術集会、2014.10.9-10、城山観光ホテル、鹿児島市

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

林 正徳 (HAYASHI, Masanori)  
信州大学・学術研究院医学系・助教  
研究者番号：20624703

##### (2)研究分担者

中村 幸男 (NAKAMURA, Yukio)  
信州大学・学術研究院医学系(医学部附属病院)・助教  
研究者番号：00549488

内山 茂晴 (UCHIYAMA, Shigeharu)  
信州大学・学術研究院医学系・准教授  
研究者番号：10242679

加藤 博之 (KATO, Hiroyuki)  
信州大学・学術研究院医学系・教授  
研究者番号：40204490

植村 一貴 (UEMURA, Kazutaka)  
信州大学・医学部附属病院・医員  
研究者番号：50624706

(3)連携研究者

( )

研究者番号：