

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 4 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26750185

研究課題名(和文) 分子生物学的解析に基づく変形性膝関節症へのリハビリテーション治療の検討

研究課題名(英文) Molecular biological analysis of rehabilitation on osteoarthritis

研究代表者

熊岸 加苗 (Kumagishi, Kanae)

岡山大学・医学部・客員研究員

研究者番号：10597892

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)：変形性膝関節症(OA)において、膝関節内へのヒアルロン酸投与と運動療法の効果に関する解析を生化学的・組織学的に行った。これらの併用療法が膝関節滑液中の炎症性サイトカインやMMP13を減少させることがわかった。さらに、併用療法の関節軟骨組織への影響を観察すると、膝関節内にヒアルロン酸を投与した場合、運動負荷のみを行ったものと比べて軟骨変性が著明に軽減していることがわかった。本研究より、ヒアルロン酸に軟骨の保護効果があることが証明された。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to analyze the effect of intra-articular injection of hyaluronan(HA) under mechanical stimulation (MS) in joints of osteoarthritis. We used physiological and biochemical methods. Our results show that therapy HA injections with mechanical stimulation in OA decreased MMP13 and Cytokines and histologically significant improvement of articular degradation compared with only MS.

研究分野：変形性膝関節症

キーワード：変形性膝関節症 リハビリテーション 軟骨破壊 運動療法 ヒアルロン酸

1. 研究開始当初の背景

今日の変形性関節症(OA)のリハビリテーション治療では、自覚症状の改善などに主眼がおかれ、科学的根拠については不透明な点が多い。近年我々は、臨床・基礎の両側面からの解析を行うことで新たな治療展開を見出しつつあり、今後さらに客観的な根拠に基づいた治療法の確立を目指す。

2. 研究の目的

変形性関節症(OA)の保存的治療では、高分子ヒアルロン酸の関節内投与とともに運動療法が行われている。近年、高分子HAの抗炎症効果は報告されており(Ann Reum Dis. 68:1051-58, 2009)、運動療法の重要性も広く知られているが、両者を併用した場合の治療効果は明確ではない。特に、リハビリテーションの効果に関しては、運動機能評価や自覚症状の改善などに主眼がおかれ、詳細なデータに基づく客観的な解析はほとんど行われていないのが現状である。

そこで我々は、高分子ヒアルロン酸の関節内投与時における運動療法の有用性を生化学的・組織学的解析を合わせて判定することを試みた。

3. 研究の方法

(1) OA患者対象の研究

整形外科の外来受診者を対象として、HA投与併用療法の開始時と開始後1か月の時点でそれぞれ治療効果の比較を行った。膝関節滑液中の炎症性サイトカイン(IL-6)、細胞外基質分解酵素(MMP13)活性の測定を行った。また、ヒト軟骨様細胞培養上清にIL-6および可溶性IL-6受容体、IL-8をそれぞれ添加し経時的にMMP13mRNA発現をreal time定量PCR法にて測定した。

(2) OAモデルラットを用いた研究

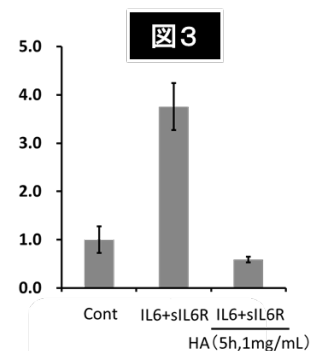
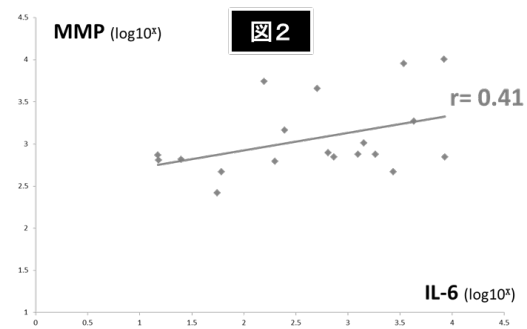
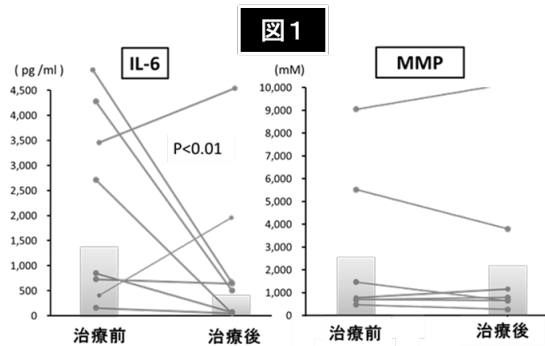
6週齢ラットの右膝関節のACL、MCLを切断、内側半月の前半部を除去し、術後7日目よりトレッドミルを用いて4週間の運動負荷を行い、OAの状態を誘発した。OAの進行度別に解析を行うために、運動強度別に3群(速度15m/min, A群:5分, B群:30分, C群:60分)を設定した。また、3群をそれぞれヒアルロン酸非投与群と投与群(1回/1週)に分けて、両者の軟骨破壊度の比較検討を行った。組織学的解析には、サフラニンO染色を用いた。

4. 研究成果

(1) OA患者対象の研究

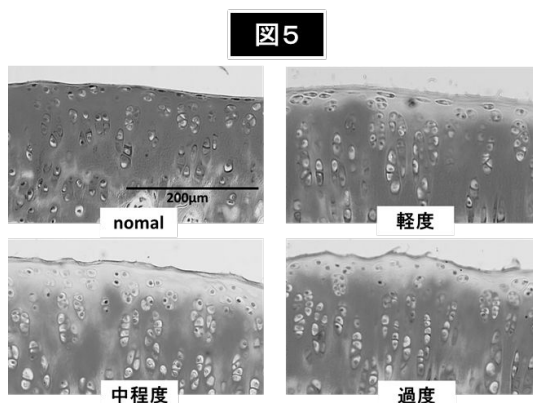
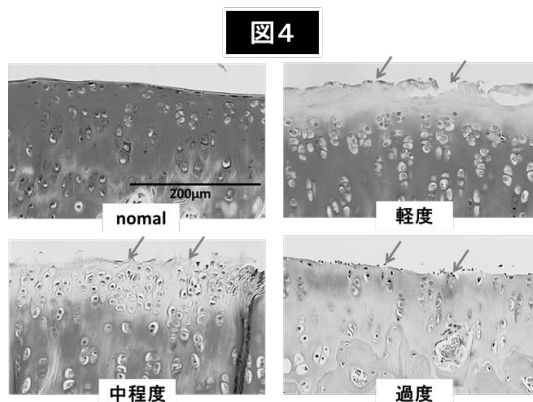
ヒアルロン酸投与と運動療法の併用療法実施患者の治療開始1か月後、膝関節滑液中のIL-6とMMP13に減少傾向がみられた(図1)。また、IL-6が減少した患者においては、MMP13活性の減少も確認された(図2)。更にin vitro試験系でヒト軟骨様細胞をIL-6、IL-8で刺激したところMMP13の発現が有意に上昇

することを確認した(図3)。



(2) OAモデルラットを用いた研究

OAラットに運動のみを行った結果、運動負荷が大きくなるほど、組織破壊が著明であった。運動負荷の軽い群では、関節軟骨の変性が表層の軟骨膜のみ観察されたのに対し、負荷の大きい群では、変性が深層にまで達していた(図4)。さらに、これらの群の膝関節内にヒアルロン酸を投与した場合、運動負荷のみの群と比べて軟骨変性が著明に軽減していた(図5)。また、興味深いことに、運動のみを行った群では、軟骨細胞の肥大化が目立っていたのに対し、ヒアルロン酸を加えた群では軟骨細胞層のカラムがきれいに保たれている様子が観察された。



以上の結果から、運動のみを行う場合と比べ、運動療法にヒアルロン酸の関節内投与を行った場合には、軟骨破壊が抑制されていることがわかった。組織学的に見てみると、ヒアルロン酸を投与したものでは、軟骨細胞の肥大化が抑制されている様子が観察された。今後、ヒアルロン酸が軟骨細胞に与える効果について更に研究を進めていきたい。

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)

大月孝志、メカニカルストレスの軟骨細胞に及ぼす多彩な作用-マトリックス合成促進と炎症性サイトカイン誘導性マトリックス分解活性抑制、第49回日本結合組織学会学術大会、2017年6月16日、三重県総合文化センター(三重県)

熊岸加苗、変形性膝関節症の治療効果に関する組織学的解析-ラットモデルを用いた検討-、第29回日本臨床整形外科

学会、2016年7月18日、ロイトン札幌(札幌市)

大月孝志、変形性関節症へのヒアルロン酸投与、いつ投与すべきか?~動物モデルからの知見~、第48回日本結合組織学会学術大会、2016年6月24日、長崎大学医学部(良順会館・記念講堂)

大月孝志、Assesment of therapeutic value of osteoarthritis rehabilitation by molecular biological and biochemical approach、第2回国際リハビリテーションシンポジウム、2016年3月26日、京都大学(杉浦地域医療研究センター)

大月孝志、ラット変形性関節症モデルへのヒアルロン酸投与による軟骨保護効果の解析、第29回日本軟骨代謝学会、2016年2月16日、広仁会館(広島県広島市)

熊岸加苗、変形性膝関節症の治療効果に関する生化学的解析、第28回日本臨床整形外科学会、2015年7月20日、山口海峡メッセ(山口県下関市)

酒井孝文、変形性膝関節症の保存的治療の効果に関する運動学的検討、第28回日本臨床整形外科学会、2015年7月19日、山口海峡メッセ(山口県下関市)

大月孝志、Decreased Sox9 mRNA expression by cytokine stimulation was ameliorated by hyaluronan in chondrosarcoma cells、American Society for Matrix Biology 2014 Meeting、2014年10月12日、クリーブランドマリ奥特キーセンター、オハイオ州 USA

熊岸加苗、変形性膝関節症の保存的治療の効果に関する生化学的解析、第27回日本臨床整形外科学会、2014年7月20日、仙台サンプラザホール(宮城県仙台市)

6. 研究組織

(1)研究代表者

熊岸加苗(KUMAGISHI, Kanae)
岡山大学医学部人体構成学・客員研究員
研究者番号: 10597892

(2)連携研究者

廣畑 聡(HIROHATA, Satoshi)
岡山大学保健学研究科・教授
研究者番号: 90332791

大月 孝志(OHTSUKI, Takashi)

岡山大学保健学研究科・非常勤研究員
研究者番号：10534802

品岡 玲 (SHINAOKA, Akira)
岡山大学医歯薬学総合研究科・助教
研究者番号：90724500

河村 顕治 (Kawamura, Kenji)
吉備国際大学保健福祉学部・教授
研究者番号：40278974

(4)研究協力者

酒井 孝文 (SAKAI, Takahumi)