

後藤 響 論文内容の要旨

主 論 文

Development and progression of immobilization-induced skin fibrosis through overexpression of transforming growth factor- β 1 and hypoxic conditions in a rat knee joint contracture model.

TGF- β 1 の過剰発現と低酸素状態は不動に伴う皮膚の線維化の発生と進行に關与する
—膝関節屈曲拘縮モデルラットにおける検討—

後藤 響, 坂本 淳哉, 中野 治郎, 片岡 英樹, 本田 祐一郎, 佐々部 陵,
折口 智樹, 沖田 実

Connective Tissue Research (2017, in press)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻
(主任指導教員: 沖田 実 教授)

【緒 言】

関節の不動によって皮膚の柔軟性・伸張性が低下すると, しばしば関節の運動制限が発生する. これは皮膚性拘縮と呼ばれる機能障害であり, しかも, 皮膚は最も体表に位置していることから, 皮膚性拘縮が生じてしまうと骨格筋や関節包といった他の関節周囲軟部組織も不動状態に曝され, 結果, これらの組織にも拘縮が発生し, 重篤な関節運動制限に発展する. しかし, 皮膚性拘縮の病態ならびに発生メカニズムについてはこれまで明らかになっていない. 一方, 強皮症にみられる皮膚の硬化は真皮から皮下組織におけるコラーゲンの過剰増生に起因した線維化の発生が主要な病態であるといわれており, その発生メカニズムには transforming growth factor (TGF) - β 1 の発現や低酸素状態の惹起による線維芽細胞から筋線維芽細胞への分化誘導が關与していると報告されている. つまり, これらの知見に基づくと, 関節の不動によって惹起される皮膚性拘縮においても強皮症と類似した病態ならびに発生メカニズムが關与しているのではないかと仮説できる. そこで本研究では, この仮説を検証する目的で, 膝関節屈曲拘縮モデルラットの皮膚における線維化の発生・進行状況ならびにそのメカニズムについて検討した.

【対象と方法】

実験動物には 12 週齢の Wistar 系雄性ラット 66 匹を用い, 両側膝関節を最大屈曲位にて 1・2・4 週間ギプス包帯で不動化を施す不動群 (各 12 匹, 計 36 匹) と不動群と同週齢まで通常飼育する対照群 (各 10 匹, 計 30 匹) に振り分け, 各不動期間終了後は両側膝関節後面の皮膚を採取した. そして, 各群の試料の一部から凍結横断切片を作製し, HE 染色像の画像解析を行い, 真皮から皮下組織までの厚さ, 真皮から皮下

組織における脂肪細胞および線維性結合組織の占める割合を計測した。また、一部の試料は生化学的解析に供し、コラーゲン特有の構成アミノ酸であるヒドロキシプロリンの含有量を計測した。さらに、一部の試料からパラフィン横断切片を作製し、筋線維芽細胞のマーカーである α -smooth muscle actin (SMA) に対する免疫組織化学染色を行い、真皮から皮下組織における α -SMA 陽性細胞出現率を計測した。加えて、一部の試料は RT-PCR 法に供し、TGF- β 1, hypoxia inducible factor (HIF) -1 α , type I・III collagen それぞれの mRNA 発現量を検索した。

【結 果】

組織学的所見として、不動群には皮下組織における脂肪細胞の萎縮・消失ならびに線維性結合組織の増加が認められ、この所見は不動期間に準拠して著しかった。そして、画像解析の結果、真皮から皮下組織の厚さは、各不動期間とも対照群と不動群に有意差を認めず、不動期間による有意差も認めなかったが、真皮から皮下組織における脂肪細胞の占める割合は、各不動期間とも不動群は対照群より有意に低値を示し、不動期間で比較するとそれに準拠して有意に低値を示した。これに対して、線維性結合組織の占める割合は、各不動期間とも不動群は対照群より有意に高値を示し、不動期間で比較すると不動 4 週は不動 1・2 週より有意に高値を示した。さらに、ヒドロキシプロリン含有量は、各不動期間とも不動群は対照群より有意に高値を示し、不動期間で比較するとそれに準拠して有意に高値を示した。次に、TGF- β 1 mRNA 発現量は、各不動期間とも不動群は対照群と比べて有意に高値を示したが、不動期間による有意差は認められなかった。一方、HIF-1 α mRNA 発現量は、不動 2・4 週において不動群は対照群より有意に高値を示し、不動期間で比較すると不動 4 週は不動 1・2 週より有意に高値を示した。さらに、 α -SMA 陽性細胞出現率は、不動 2・4 週において不動群は対照群より有意に高値を示し、不動期間で比較すると不動 4 週は不動 1 週より有意に高値を示した。加えて、type I・III collagen mRNA 発現量は、いずれも各不動期間において不動群は対照群より有意に高値で、不動期間で比較すると type I collagen mRNA 発現量はそれに準拠して有意に高値を示し、type III collagen mRNA 発現量は不動 4 週が不動 1 週より有意に高値を示した。

【考 察】

今回の結果から、皮膚は 1 週という短期の不動によって線維化が発生し、これは type I・III collagen の過剰増生に起因することが示唆され、しかもこの線維化は不動期間の延長に伴って進行することが明らかとなった。つまり、不動によって惹起される皮膚性拘縮の主要な病態は線維化であるといえよう。そして、この発生メカニズムについて検討した結果、1 週という短期の不動では、TGF- β 1 の発現によって線維芽細胞が活性化され、コラーゲン産生が亢進することが影響していると推察される。また、不動期間を延長するとこのことに加え、低酸素状態の惹起と線維芽細胞から筋線維芽細胞への分化誘導が促進し、コラーゲン産生がさらに亢進し、結果、線維化が進行すると推察される。

(備考) ※日本語に限る。2000 字以内で記述。A4 版。