

佐々部 陵 論文内容の要旨

主 論 文

Effects of joint immobilization on changes in myofibroblasts
and collagen in the rat knee contracture model

関節の不動が膝関節屈曲拘縮モデルラットの関節包における
筋線維芽細胞とコラーゲンの変化におよぼす影響

佐々部 陵, 坂本 淳哉, 後藤 響, 本田祐一郎, 片岡 英樹, 中野 治郎,
折口 智樹, 遠藤 大輔, 小路 武彦, 沖田 実

Journal of Orthopaedic 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】

関節拘縮（以下、拘縮）は、関節周囲軟部組織の器質的变化に由来する関節可動域制限であり、その多くは関節の不動によって惹起され、日常生活活動の阻害因子となることから、その病態の解明はリハビリテーション科学領域における重要な課題となっている。なかでも、関節包の器質的变化に由来する関節性拘縮については、コラーゲンの過剰増生、すなわち線維化の発生・進行がその主要な病態であることが組織学所見として示されているものの、そのことを支持する定量的なデータや拘縮の進行との関連性を示すデータは示されておらず、未だ関節性拘縮の病態像は明らかになっていない。また、不動による関節包の線維化の発生メカニズムに関しては一定した見解が示されていないのが現状である。そこで、本研究では関節性拘縮の病態と発生メカニズムを明らかにすることを目的に、膝関節屈曲拘縮モデルラットにおける関節包の線維化の発生状況ならびに筋線維芽細胞の動態変化について縦断的に検討した。

【対象と方法】

実験には 12 週齢の Wistar 系雄性ラットを用い、両側膝関節を最大屈曲位にてギプス包帯で 1・2・4 週間不動化する不動群 (n=30, 各 n=10) と、不動群と同週齢まで通常飼育する対照群 (n=30, 各 n=10) に振り分けた。実験開始時および終了時には、各群すべてのラットを麻酔し、膝関節伸展可動域 (ROM) を測定した。そして、実験終了時の不動群においては、両側後肢後面の皮膚を縦切開し、膝関節屈筋群を切離した後の ROM を再度測定し、実験開始時の ROM を差し引くことで関節包由来の制限角度を求めた。そして、これを実験終了時の制限角度で除し百分率で表したものを

ROM 制限に対する関節包の関与率とした。その後、両側膝関節を摘出し、通法のパラフィン包埋を行い、以下の検索に供した。具体的には、関節包の線維化の発生・進行状況について検討するため、右側試料から作製した矢状断切片に対して **Picrosirius Red** 染色を施し、光学顕微鏡下で各切片における後部関節包を同定し、同部位を 40 倍ならびに 400 倍の拡大像でコンピューター内に取り込んだ。そして、前者の画像においては画像処理ソフトを用いて縦・横 50 μ m 間隔に格子線を描き、コラーゲン線維束上に存在する格子線の交点の総数を算出し、コラーゲンの量的変化を半定量化した。また、後者の画像においては、画像解析ソフトを用いて単位面積あたりのコラーゲン線維束の占有率を算出し、コラーゲンの密生化の状況を半定量化した。次に、左側試料から得られた矢状断切片については、**type I・III collagen mRNA** に対する **in situ hybridization** を実施し、後部関節包における各陽性細胞の割合を算出した。加えて、筋線維芽細胞のマーカーである **α -smooth muscle actin (α -SMA)** に対する免疫組織化学的染色を行ない、後部関節包における陽性細胞の割合を算出した。統計処理には、群間比較として対応のない t 検定を、群毎の不動期間の比較には一元配置分散分析ならびに **Scheffe 法** による事後検定を適用し、危険率 5%未満をもって有意差を判定した。

【結 果】

各不動期間において、不動群の ROM は対照群と比べて有意に低値を示し、不動期間に準拠して有意に低値を示した。また、ROM 制限に対する関節包の関与率は不動 1 週より 40%を越え、不動 2 週以降は不動 1 週と比べて有意に高値を示した。次に、コラーゲンの量的変化は、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、不動 4 週は不動 1・2 週より有意に高値を示した。また、その密生化については不動 2・4 週において不動群は対照群に比べて有意に高値を示し、不動期間に準拠して有意に高値を示した。そして、**type I collagen mRNA** 陽性細胞の割合は、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、不動期間に準拠して有意に高値を示した。一方、**type III collagen mRNA** 陽性細胞については、各不動期間とも不動群と対照群の間に有意差を認めなかった。最後に、 **α -SMA** 陽性細胞の割合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、不動期間に準拠して有意に高値を示した。

【考 察】

本研究の結果、不動群では不動 1 週より関節包由来の ROM 制限が発生しており、これは不動期間の延長に準拠して進行していた。また、実際に関節包では不動 1 週よりコラーゲンの増生が、不動 2 週からはその密生化が生じており、これらは不動期間依存的に顕著になっていた。つまり、不動状態に曝された関節包では線維化が発生・進行しており、これは関節性拘縮の主要な病態であると推察される。そして、不動群では **type I collagen mRNA** 陽性細胞のみが増加しており、関節包の線維化の本態は **type I collagen** の過剰増生に起因した変化であると推測される。さらに、不動群における筋線維芽細胞の動態は、線維化の発生・進行状況ならびに **type I collagen mRNA** 陽性細胞の動態と同様の推移を示した。つまり、不動によって惹起される関節性拘縮の発生メカニズムの一端には筋線維芽細胞の増加に伴う **type I collagen** の過剰増生が深く関与していることが示唆された。

(備考) ※日本語に限る。2000 字以内で記述。A4 版。