

<研究課題>

サルコペニアが高齢者の慢性疼痛発症に及ぼす因子についての検討

研究代表者 神戸大学附属病院リハビリテーション部 医員 乾淳幸
共同研究者 神戸大学大学院医学研究科リハビリテーション機能回復学
教授 酒井良忠
神戸大学附属病院リハビリテーション部 医員 西本華子

<まとめ>

早期老化モデルマウスにアキレス腱腱鞘炎を生じさせ筋・腱・後根神経節における変化を検討した。

老化個体において、腱鞘炎が生じた後も遺伝子レベルでは腱修復機能が働いていることが示唆された一方で、筋肉の再生能が低下して筋萎縮や脂肪変性が生じていた。また、後根神経節における疼痛マーカーについても検討を行ったが有意な差は認めなかった。

腱局所での修復障害が、慢性的な疼痛や機能障害につながると考えられた。

1. 研究の目的

全身の骨格筋量の減少と筋力低下を特徴とするサルコペニアは高齢者のADLの低下に直結することから、近年その疾患の発生メカニズムについて研究が行われている。我々は日常診療において、高齢者では外傷からの治癒能力が低下していること、また外傷の治癒が得られても疼痛が残存し遷延化することをしばしば経験する。しかしながら、加齢が慢性疼痛発症におよぼす影響については知られていない。

サルコペニアでは筋幹細胞の機能不全が生じていると想定され、病理学的には筋線維の線維化や脂肪浸潤が認められ、炎症性サイトカインの発現亢進や作用の遷延化が認められると報告されている。これらの病理学的変化はいずれも疼痛の遷延化につな

がる可能性があるが、それについての詳細な研究報告はない。

今回の研究では1. サルコペニア動物では損傷に対しての自己修復能力が低下している、2. その結果として慢性的な疼痛が生じているとの仮説に基づき、老化促進マウスの腱鞘炎モデルを作成し、組織学的・分子生物学的な検討を行った。

2. 研究の方法と経過

(1) 疼痛モデル動物の作成

サルコペニアマウスとして、40週齢の老化促進マウス:senescence accelerated mouse P6(以下SAM-P6)と、コントロール群としてsenescence resistant mouse(以下SAMR)を使用した。疼痛モデルとして、アキレス腱腱鞘炎モデルを作成した。マウスの右アキレス腱に27Gの注射針を用いて経皮的に0.3mgのcollagenase-1(以下、コラゲナーゼ)を腱鞘内に注射した。注射後はケージ内で自由に行動させた。

(2) 組織学的・分子生物学的検討

コラゲナーゼ注入の2週間後にマウスをsacrificeしアキレス腱および腓腹筋を採取した。組織学的検討としてヘマトキシリン-エオジン染色(以下HE染色)による腱の炎症の程度の評価と、分子生物学的検討として、アキレス腱・腓腹筋・および下腿の知覚を支配していると考えられる坐骨神経が形成する後根神経節からRNAを抽出し、リアルタイムPCR法にて腱の再生マーカー、筋肉の再生マーカー、および後根神経節に

おける疼痛マーカーの発現について検討を行った。

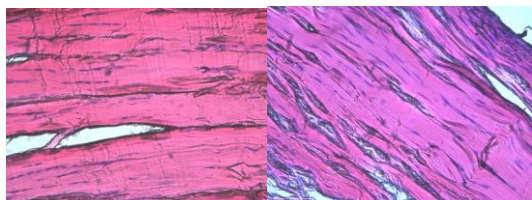
統計学的検討として、SAMP6 群と SAMR 群の遺伝子発現量の比較には t 検定を用い、 $P < 0.05$ を統計学的有意差ありと判断した。

3. 研究の成果

組織学的評価

コラゲナーゼ注入後に両群とも、膠原線維の配列の乱れや核数の増加が観察され、腱鞘炎に合致する所見と考えられた。SAMP6 群では配列の乱れが SAMR 群に比べて強い傾向を認めた。

アキレス腱の長軸像 (HE 染色)

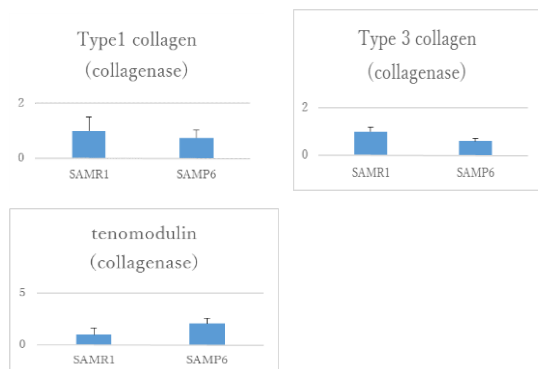


SAMR 群

SAMP6 群

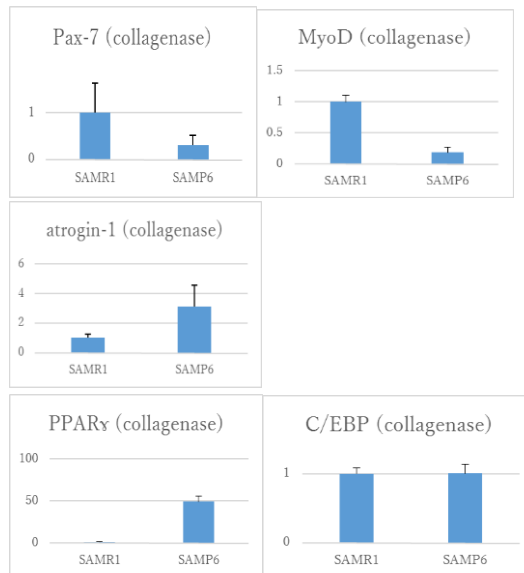
遺伝子発現解析

腱の主成分である、1 型コラーゲンの発現および腱の損傷後に発現が増加する 3 型コラーゲンの発現は両群で有意差を認めなかった。一方、腱の再生マーカーである tenomodulin は SAMP6 群で高い傾向を認めた。このことは、老化個体において、腱鞘炎が生じた後も遺伝子レベルでは腱修復機能が働いていることを示唆する結果となった。



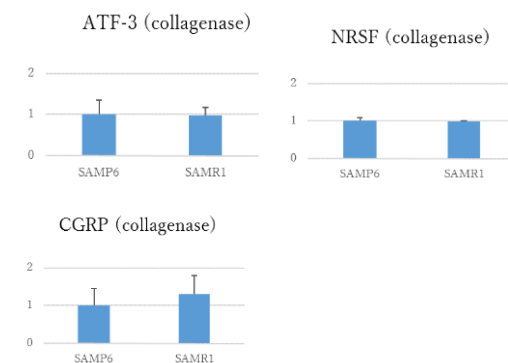
筋肉については、筋肉の再生マーカー、萎縮マーカー、脂肪変性マーカーについて検討を行った。筋再生マーカーである Pax7 や MyoD は SAMP6 群でいずれも有意に低値であった一

方、筋萎縮マーカーである atrogen は SAMP6 群では高値であった。また、筋肉は萎縮や不動化後に脂肪浸潤を生じることが知られているが、PPAR γ や C/EBP といった脂肪分化マーカーの内、PPAR γ は SAMP6 群で高値を示した。



以上の結果より、老化個体においては腱鞘炎後に筋再生能が低下して筋萎縮や脂肪変性が生じている可能性が示唆された。

さらに、マウスの下腿を支配する坐骨神経から形成される後根神経節における疼痛マーカーについても検討を行ったがいずれの遺伝子も両群間での有意な差は認めなかった。



4. 今後の課題

SAMP6 群においては腱鞘炎後に筋肉を中心とした萎縮と脂肪変性が生じることが示された一方で、後根神経節における疼痛マーカーの発現には大きな変化を認めなかった。この

原因としては、本研究のモデルは局所炎症を主体とする侵害受容性疼痛がメインであることが考えられる。

今後の課題として、損傷組織における侵害受容性疼痛マーカーの解析や治癒までの期間を比較することで、高齢者やサルコペニア患者の慢性疼痛の発症原因解明が期待される。

5. 研究成果の公表方法

今後、下記に示す通り国内外において2件の学会発表を行う予定である。研究結果はまとめり次第、論文として Journal of Orthopaedic Research に投稿予定である。

①第53回 日本リハビリテーション医学会

老化モデルマウスにおけるアキレス腱修復後の筋腱の脂肪変性の検討

乾淳幸 植田安洋 西本華子 美船泰 酒井良忠

②Orthopaedic Research Society Annual Meeting 2016

Molecular changes of tendon and muscle after Achilles tendon repair in senescence accelerated mouse

Atsuyuki Inui ; Yasuhiro Ueda ; Takeshi Kokubu ; Yutaka Mifune, Ryosuke Sakata
Yoshifumi Harada ; Fumiaki Takase ;
Takeshi Kataoka ; Masahiro Kurosaka

<参考文献>

(1)Yu TY et al; Aging is associated with increased activities of matrix metalloproteinase-2 and -9 in tenocytes. Musculoskelet Disord 2013

(2) Tatiana Y et al; Age related changes in structure and extracellular matrix protein expression levels in rat tendons. Age 2013

(3) Kjar M et al; Extracellular matrix adaptation of tendon and skeletal muscle to exercise. J Anat 2006

(4) Wood et al; Regional stiffening with aging in tibialis anterior tendons of mice occurs independent changes in collagen fibril morphology. J Appl Physiol 2011