慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	Stress deprivation simultaneously induces over-expression of interleukin-1 beta, tumor necrosis factor-alpha, and transforming growth factor-beta in fibroblasts and mechanical deterioration of the tissue in the patellar tendon.
Sub Title	除負荷は膝蓋腱線維芽細胞におけるIL-1β, TNF-α, TGF-βの発現亢進と、膝蓋腱の力学的特性の低下を同時に来たす
Author	内田, 尚哉
Publisher	慶應医学会
Publication year	2005
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.82, No.3 (2005. 9) ,p.11-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20050902-0011

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Stress deprivation simultaneously induces over-expression of interleukin-1 beta, tumor necrosis factor-alpha, and transforming growth factor-beta in fibroblasts and mechanical deterioration of the tissue in the patellar tendon.

（除負荷は膝蓋腱線維芽細胞におけるIL-1β，TNF-α，TGF-βの発現亢進と、膝蓋腱の力学的特性の低下を同時に来たす）

内　田　　尚　哉

内容の要旨

腱・靭帯組織はこれを取り囲む力学的環境の影響を受けることが知られている。我々は、関節運動を維持したまま膝蓋腱を除負荷させる方法を家兎において開発し、除負荷膝蓋腱の力学的特性は数週以内に著明に低下することを報告した。しかし、除負荷による膝蓋腱の力学的特性の低下に関する発生機序に関しては未だ明らかではない。一方、力学的環境の変化は種々の培養細胞において種々のサイトカインの発現亢進を来たすことが知られている。また、種々のサイトカインは腱・靭帯組織の線維芽細胞におけるコラーゲンおよびコラゲナーゼ合成を制御することが知られている。本研究の目的は、除負荷が膝蓋腱線維芽細胞におけるサイトカインの発現と、膝蓋腱の力学的特性に及ぼす影響について検討することである。

実験動物として成熟雄Wistar系ラットを用い、Group 1（除負荷群）とGroup 2（対照群）に分けた。Group 1では右膝蓋腱に除負荷処置を行い、Group 2では右膝にsham手術を行った。Group 1およびGroup 2とも術後２週および６週で屠殺し、力学的検討および免疫組織化学的検討に供した。力学的検討には、断面積の測定と、膝蓋骨－膝蓋腱－脛骨複合体の引張試験を行い、応力－歪み曲線を作成して弾性率を算出した。免疫組織化学的検討には、間接酵素抗体法による免疫染色を施行した組織像より、全細胞数に対する染色陽性細胞の割合（陽性細胞率）を算出して定量的検討を行った。

断面積に関しては、Group 1はGroup 2に比し有意に高値を示した。弾性率に関しては、Group 1はGroup 2に比し有意に低値であった。IL-1β、TNF-α、TGF-βに関しては、陽性細胞率はいずれもGroup 1はGroup 2に比し有意に高値であった。

本研究より、除負荷は膝蓋腱の断面積の増加と弾性率の低下をもたらすと同時に、膝蓋腱線維芽細胞におけるIL-1β、TNF-α、TGF-βの発現亢進を生じることが明らかとなった。過去の報告より、in vitroにおいて種々の線維芽細胞に繰り返し応力を作用させると、IL-1βやTNF-αの発現が亢進することが知られており、またIL-1β、TNF-αは線維芽細胞のmatrix metalloproteinase（MMP）-1およびMMP-3の発現を亢進させることが知られている。本研究の力学的特性低下の機序として、細胞に作用する力学的環境の変化がIL-1β、TNF-α等のサイトカイン分泌を誘導してコラーゲンマトリックスの分解に作用する酵素産生を刺激し、これが腱マトリックスの構造を破壊して力学的強度を低下させる、ということが推測される。本研究の結果は除負荷による腱・靭帯組織の力学的特性の低下へのIL-1β、TNF-αの関与を直接的に示唆するものではないものの、IL-1β、TNF-αの制御は除負荷による腱・靭帯組織の力学的特性の低下を抑制できる可能性が考えられる。以上の結果から、抗IL-1β抗体、抗TNF-α抗体の投与により腱・靭帯組織の力学的特性の低下を予防しうる可能性が示唆された。

論文審査の要旨

腱・靭帯組織はこれを取り囲む力学的環境の影響を受けることが知られており、除負荷家兎膝蓋腱の力学的特性は数週以内に著明に低下するとの報告がなされているが、その発生機序は不明である。そこで今回、ラットモデルを用いて除負荷膝蓋腱の線維芽細胞におけるサイトカインの発現と、膝蓋腱の力学的特性の低下を同時に検証した。実験動物として成熟雄Wistar系ラットを用い、除負荷群と対照群に分けた。除負荷群では右膝蓋腱に除負荷処置を行い、対照群ではsham手術を行った。除負荷群および対照群とも術後２週および６週で屠殺し、力学的検討および免疫組織化学的検討に供した。免疫組織化学的検討には、間接酵素抗体法による免疫染色を施行した組織像より、全細胞数に対する染色陽性細胞の割合（陽性細胞率）を算出して定量的検討を行った。力学的検討には断面積の測定と引張試験を行い、応力－歪み曲線を作成して弾性率を算出した。IL-1β，TNF-α，TGF-βに関しては、陽性細胞率はいずれも除負荷群は対照群に比し有意に高値であった。断面積に関しては、除負荷群は対照群に比し有意に高値を示した。弾性率に関しては、除負荷群は対照群に比し有意に低値であった。本研究の力学的特性低下の機序として、細胞に作用する力学的環境の変化がIL-1β，TNF-α等のサイトカイン分泌を誘導してコラーゲンマトリックスの分解に作用する酵素産生を刺激し、これが腱マトリックスの構造を破壊して力学的強度を低下させる、ということが推測された。本研究の結果は除負荷による腱・靭帯組織の力学的特性の低下へのIL-1β，TNF-αの関与を直接的に示唆するものではないものの、IL-1β，TNF-αの制御は除負荷による腱組織の力学的特性の低下を抑制できる可能性が示唆された。

審査では、まず免疫染色の組織像において除負荷群で細胞密度の著明な増加を来たす機序につき質問がなされ、内在性細胞の増殖とともに外来性細胞の浸潤によることが証明されているとの回答がなされた。さらにこの除負荷モデルが臨床上対応するものについての質問がなされ、膝前十字靭帯再建術における靭帯の負荷張力が発想の原点であり、ギプス固定による腱・靭帯の脆弱化に対応するとの回答がなされた。また、免疫染色による評価のみではサイトカインの発現量の亢進を直接示すものではないこと、サイトカインの発現に関連したMMPの発現の検証を要すること、コラーゲンマトリックスの分解を示す直接的な評価が必要であることなど、今後の課題について示唆を受けた。

以上のように、本研究はさらに検討されるべき点を残しているものの、除負荷により腱組織に生じる力学的特性低下の発生機序の一部を明らかにした点で有意義であると評価された。

論文審査担当者　主査　整形外科学　戸山　芳昭
リハビリテーション医学　里宇　明元　　病理学　岡田　保典
微生物学・免疫学　小安　重夫
学力確認担当者：北島　政樹、里宇　明元
審査委員長：里宇　明元

試問日：平成17年 6月21日