

## 最終試験の結果の要旨

報告番号	保研 第 <b>39</b> 号		氏名	則松 貢輔
審査委員	主査	永野 聡	副査	根路銘 安仁
	副査	宮田 昌明		
	副査	窪田 正大		

Effects of low-intensity exercise on spontaneously developed knee osteoarthritis in male senescence-accelerated mouse prone 8

雄性老化促進マウス (SAMP8) の自然発症型変形性膝関節症に対する低強度運動の効果

主査及び副査の5名は、令和5年12月19日15時から16時にかけて、学位請求者 則松 貢輔氏 に対し、論文の内容について質疑応答を行うと共に、関連事項について試問を行った。

具体的には、以下のような質疑応答がなされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。

- 【質問1】 SAMP8は変形性膝関節症（以下膝OA）モデルと言われているが、なぜOAが発症するのか。
- 【回答】 現在、遺伝子レベルでの膝OA発症するのかが解明されていませんが、Sanadaらは、十字靭帯の変性やCollagen Type Xが脛骨内側面に広範囲に出現していることを報告しています。このようなことから関節が不安定になるモデルであると考察しました。
- 【質問2】 ヒトでは女性が多いが、なぜ実験に使われた動物は雄なのか。
- 【回答】 雌を使用しなかった理由とし、飼育制約上、雄と雌を同時購入が不可能なこと。また先行研究から雄性SAMP8は膝OAモデルであるとの報告から、今回は雄を使用しました。
- 【質問3】 なぜ本研究は9か月齢でみたのか。
- 【回答】 Takedaらの報告で平均寿命が9.7か月齢との論文がありEnd pointを9か月齢に合わせました。
- 【質問4】 マウスの通常歩行速度はどのくらいなのか。
- 【回答】 マウスの通常速度は検証していません。データには示しませんでした。正常発達のSAMR1での9か月齢は棒上歩行で約1.29秒であったことから、通常歩行速度と考えています。
- 【質問5】 疼痛による症状はあったのか。
- 【回答】 疼痛による跛行等は認めませんでした。また本研究ではデータには示しませんでした。予備研究で行動学的疼痛試験であるVon-Frey試験を実施しましたが、一貫した結果が得られませんでした。
- 【質問6】 Table2の相関係数についてはどういうデータなのか。
- 【回答】 経時的な角度と関節評価の相関関係を調査しました。
- 【質問7】 Collagen Type IIとMMP-13のタイミングがずれていないか。運動群はこれからもMMP-13が出続きそうか。
- 【回答】 今回、残存軟骨の陽性細胞数を評価したため、軟骨層の減少とともに変化しているためタイミングがずれているように見えるが陽性細胞は減少している。運動群は軟骨層が存在する限り、膝OA自然発症モデルであることからMMP-13が出現し続ける可能性もあると考えています。
- 【質問8】 大腿四頭筋の筋萎縮が膝OAのトリガーになったのか。
- 【回答】 Xu Jらの報告で膝筋萎縮は、ラットでの膝OAの危険因子となる報告もあり、大腿四頭筋の禁断面積において経時的な有意差はありませんでしたが、減少傾向となっていました。そのため本研究では1つの膝OA発症因子として考察しました。

【質問9】肥満だけど、健康な人もいるが、最終的には膝の痛みが出現する。本研究の結果からどのようなアドバイスができるか。また副論文でも水泳を実施しているがどの運動が良いのか。電気を使用して大腿四頭筋を強化する方法はどうか。

【回答】今回の結果から、歩行様の運動でも滑膜の炎症は軽減することができます。さらに変性した軟骨は再生することはできませんが、残存している軟骨は維持できる可能性があるというアドバイスができています。次に副論文ではOA発症する5か月齢に荷重（トレッドミル）と非荷重（水泳）の運動を実施しました。その結果、両方の運動が加齢による軟骨変性を緩和させ、関節可動域や歩容を改善させることを示しました。特に水泳は、膝OA軟骨の恒常性維持や歩容改善に有益であるとの報告をしました。最後に本研究では実施しませんでした。大腿四頭筋強化は電気刺激でも有用であると考えます。しかし、歩行などの運動時に必要な時期に収縮させないといけないうえ、理学療法士が介入することでより有益な大腿四頭筋強化につながると考えます。

【質問10】膝関節のみ特異的に変性するのか。

【回答】本研究では示しませんでした。肩関節や股関節の組織学的染色を行い観察しましたが、膝関節のように著明な関節変性は認めませんでした。

【質問11】MMP-13は陽性細胞数で定量すると5か月齢で多く出現しているが、軟骨細胞でWesternはできるのか。

【回答】今回は免疫学的染色方法で実施しました。今後は軟骨組織でWesternを行い検証していきたいと考えています。

【質問12】自然老化と正常老化はどういうことか。

【回答】生育速度を示しています。SAMP8は老化促進マウスモデルで加速的に自然老化を観察できるモデルです。一方、ControlであるSAMR1は正常発達モデルで一般的な生育を示しています。

【質問13】3, 5, 7, 9か月齢で経時的変化を調査したが、今回なぜ7か月齢で運動介入を実施したのか。

【回答】2つの理由があります。1つ目は、Nakanishiらの報告で7か月齢より活動量が低下するとの報告があります。2つ目に9か月齢で重度のOAを呈することから、運動の効果による軟骨保護を確認するため1つ前の7か月齢より運動介入を実施しました。

【質問14】低強度という運動で行った。適切な運動強度というものはあるのか。

【回答】膝OAに対しての運動強度は、中等度が良いという報告は多いです。今回は、高齢者でも長期間実施可能な低強度でも、効果が出るのではないかと仮説のもと、10-12m/minで実施しました。

【質問15】膝関節屈曲角度と膝OAの関連性についての報告はあるのか。

【回答】ラットを用いて膝OAと膝関節屈曲角度の関連性について報告しているものがありますが、複数の膝関節構造評価と関節角度の相関を調査している論文は本研究論文以外確認できませんでした。

【質問16】運動は何に作用して膝を保護したのか、荷重が良いのか。

【回答】運動は全般的に抗炎症作用があるとの報告があります。そのため滑膜炎を軽減させ、さらに大腿四頭筋の筋断面積増加したこと。またNomuraらは、軟骨恒常性維持には適度なメカニカルストレスが必要であるとの報告もあります。そのため、これらが影響して膝関節を保護したのではないかと考えています。

【質問17】膝関節内側後方の半月板断裂がOAに関連していると言われている。半月板はどのように変性していたのか。

【回答】今回、SAMP8の半月板評価は実施しませんでした。しかし、組織観察をしていくと滑膜肥厚とともに半月板の変性も始まりました。半月板断裂まで確認できませんでしたが、最後は滑膜とともに骨硬化または消失した組織画像も観察されたため、SAMP8は膝OA自然発症モデルであると考えています。

以上の結果から、5名の審査委員は本人が大学院博士課程修了者としての学力と識見を十分に具備しているものと判断し、博士（保健学）の学位を与えるに足る資格をもつものと認めた。