

高齢者の変形性関節症の成因 および病態に関する総合的研究

(H10-長寿-009)

平成10年度厚生科学研究費補助金長寿科学総合研究事業
研究報告書

平成11年3月

主任研究者 岩 田 久

(名古屋大学医学部教授)

高齢者の変形性関節症の成因および病態に関する総合的研究

主任研究者 岩田 久 名古屋大学医学部整形外科教授

研究要旨 研究の概要

変形性関節症は運動機能障害やQOLの低下を生じるため、その対策は高齢者医療において非常に重要な課題である。本研究の目的は、総合的に変形性関節症の成因および病態を解明し、さらに変形性関節症の治療法の開発に貢献することにある。

主任研究者の岩田は、プロテオグリカン（以下PG）合成は変形性関節症の進行初期に亢進、一方コラーゲン合成は進行期関節症で高まる変化を示すこと、ケラタン硫酸、コンドロイチン6硫酸の濃度も関節症初期に上昇することを示し、関節症の関節液中物質の測定により関節破壊解明のてががりとした。石黒は、TNF α 刺激での転写因子NF κ -Bの抑制が高分子のヒアルロン酸（以下HA）の作用下に認められるため、高分子HAは転写因子NF κ -Bの活性化抑制を介し、IL-8産生抑制に働くことを示し軟骨基質の分解産物が関節破壊の原因になりうることを明らかにした。原田は、変形性脊椎症の経年的進行をMRIで評価し、筋肉量、脂肪量および骨量と椎間板変性との関連から、椎間板の局所変化と全身因子との関わりを検討し、全身骨BMDとBody Compositionとの関連を検討した結果、骨量と脂肪量および筋肉量は椎間板退行変性と逆相関することを示した。山田はTGF- β 1がOsteoclastogenesis inhibitory factor (OCIF)を介して骨リモデリングに重要な役割を果たしており、傍関節骨破壊の成因に関与している可能性を示唆した。渡辺は、関節症におけるTGF-bの作用機構および細胞外マトリックス（以下ECM）合成酵素の発現調節機構について検討を行い、培養軟骨細胞、線維芽細胞においてTGF-b群により、HA合成酵素遺伝子の一過性の発現誘導を検出した。また高分子量HA合成能を獲得させるヒトHA合成酵素遺伝子を組み込んだアデノウィルスベクターを構築した。

分担研究者

石黒直樹（名古屋大学医学部・講師）

原田 敦（国立療養所中部病院・医長）

渡辺 研（国立長寿医療研究センター・室長）

山田芳司（国立長寿医療研究センター・室長）

A. 研究目的

岩田は関節液中の各種物質測定と臨床所見との対比により関節破壊の機序を理解する事、そして臨床的に用いる関節症マーカー（関節破壊指標物質）の開発を目的とした。石黒は細胞外基質の細胞代謝への影響による関節症発症・進展の機序を明らかにすることを目的とした。原田は椎間板変性と骨量のみでなく、筋肉・脂肪など軟部組織量との比較から、変形性脊椎症の進行要因を明らかとすることを目的とした。山田は骨芽細胞やストローマ細胞におけるOCIFとTGF- β 1の相互作用について検討、関節液中の濃度を測定することによりin vitroでの現象と関節症における意義を明らかにすることを目的とした。渡辺は関節症におけるTGF- β 作用を細胞内シグナル伝達レベルで検索することにより、その作用を関節構成細胞ごとに細分化することを目的とする。また新しい治療法へのてががりとして、HA合成酵素の細胞選択性の低いアデノウィ

ルスによる発現系を構築することを目的とした。

B. 研究方法

岩田は変形性膝関節症患者の関節液を得た者の膝関節レ線写真（55例）およびMRI（34例）を調査対象とした。関節液中のMMP-1,-3及びTIMP-1,-2、コンドロイチン4硫酸、6硫酸、HA、ケラタン硫酸、Type II collagen C-propeptideおよびコンドロイチン硫酸846epitopeを測定した。レ線およびMRIはMinkらの方法を参考に軽度・中等度・重度の3段階に分類し各種関節液中物質と比較検討した。石黒はヒト軟骨組織由来細胞株HCS2/8とRA患者の滑膜細胞を用い、各種分子量のHAを20時間作用させた後、TNF α 刺激を10時間作用させ培養液を回収し、IL-8を測定した。またTNF α 刺激を1時間作用させ細胞を回収し、NF κ -Bの活性化を観察した。原田は閉経後女性で腰痛等の診断にMRIを必要とする症例221名（46~90歳、平均68.9歳）を対象とした。椎間板変性の評価は、MRIによる平均椎間板突出面積を計算した。全身骨骨密度(BMD)とBody Compositionから脂肪量、Lean Mass、Bone Mineral Content (BMC)も評価しこれらと椎間板変性度との関係を検討した。山田はストローマ細胞株ST2、PA6および骨芽細胞株MC3T3-E1の培

養系を用いてTGF- β 1を作用させ、OCIFの活性、タンパク量、mRNA発現量、mRNA安定性を検討した。さらに、マウス骨髄細胞培養系にて、TGF- β 1およびOCIFの破骨細胞に対する作用について検討した。また変形性膝関節症130例およびRA30例の滑液ならびに健常者および骨粗鬆症242例から得られた血清OCIF濃度を測定した。渡辺はマウス軟骨細胞株ATDC5ならびにヒト胎児由来二倍体線維芽細胞株IMR90, MJ90を低血清濃度条件において、TGF- β 処理もしくはBMP処理し、三種類のHA合成酵素遺伝子(Has1, Has2, Has3)の発現変化をノーザン分析した。同時にHA合成酵素遺伝子ベクターの構築に非増殖性アデノウイルスベクターを用い、ウイルスDNAは、大腸菌内で増幅し、平滑末端化したヒトHA合成酵素(Has2) cDNAを組み込んだ。ウイルス化は、293細胞において遺伝子相同組換えにより行った。HA合成量はHAプレートにより測定を行った。

C. 研究結果

岩田の研究では関節液中のMMP-1,3 TIMP-1に相関が見られた。PGの合成は関節症初期に亢進し、コラーゲン合成は中等度の関節症で高まった。ケラタン硫酸、コンドロイチン6硫酸濃度も関節症初期に上昇する傾向を示した。石黒の研究ではどの分子量のHAもHCS2/8に対してIL-8の分泌量を変化させなかった。一方高分子量HAを作用させたRA滑膜細胞ではTNF α 刺激によるIL-8の分泌量が低下する傾向が認められた。この低下は低分子量HAでは観察されなかった。原田の研究では椎間板面積は、全身骨BMDとその年齢補正值との間に負の相関を有し、椎間板突出率は正の相関を有していた。BMCと脂肪量も同様な相関が認められた。Lean Massは椎間板面積とは関連が無く、椎間板突出率との間に正の相関という結果であった。各組織量のうち脂肪量の与える影響は、骨量や筋肉量より低いと判断された。山田の研究では種々のストローマ細胞や骨芽細胞においてはTGF- β 1がOCIFのmRNA発現を誘導した。この作用はOCIF mRNAの転写促進および安定性増加の両者による。骨髄細胞の培養系では、OCIFおよびTGF- β 1はいずれも破骨細胞の形成を抑制した。TGF- β 1の抑制作用の一部はOCIFを介する効果であった。変形性膝関節症ではRAに比べ滑液中OCIF濃度が約2倍高く、重症度に依存していた。また滑液中のOCIF濃度は変形性膝関節症では血中濃度の約8倍、RAでは約4倍と高値であった。一方、血中OCIF濃度は加齢と共に有意に増加し、骨粗鬆症例では正常者に比べ血中濃度が有意に上昇していた。渡辺はHA合成酵素遺伝子のうち、Has1とHas2がマウス軟骨細胞株ATDC5に発現しており、分化段階での発現変化はあまり認められないことを示した。TGF- β 処理で

は、一過性のHas2遺伝子発現誘導が観察された。BMP処理でも発現上昇が確認された。この発現は濃度依存的に亢進した。Has1遺伝子の発現の変化は見られなかった。ヒト線維芽細胞においては、Has1, Has2, Has3ともに発現が認められた。TGF- β 処理で、Has2遺伝子の発現は濃度依存的に亢進した。Has2遺伝子をコードするHas2 cDNAのアミノ酸翻訳配列にN末端翻訳開始部位に翻訳開始コンセンサス配列(Kozak sequence)を付し、アデノウイルスベクターへ挿入した。このヒトHA合成酵素遺伝子を各種培養細胞に導入したところ、コントロールに比べ、顕著にHA合成量が上昇した。

D. 考察

1. MMP、TIMP濃度の検討では、関節液中でMMP-3はMMP-1, TIMP-1濃度と相関を示した。FreeのTIMPがMMPの活性阻害に働くことを考えるとMMPの濃度上昇に伴いTIMP-1濃度上昇が観察されたのはMMPの阻害に働く防御反応とも考えられる。一方コラーゲンとPGの再生に関わるType II collagen C-propeptideとコンドロイチン硫酸846epitopeについては関節症の進行による差が見られむしろ合成系が病態に深く関わる可能性を示唆した。石黒の研究の結果では高分子量HAは、低分子量HAとの高次構造の違いやレセプターへの拮抗により、異なった細胞内シグナルの伝達を行っている可能性があり、ECMの分子量の違いが細胞の代謝に影響を及ぼしうることが示された。また今回の結果から高分子量HAの抗炎症効果は軟骨ではなく、滑膜に対して存在する可能性を考える必要がある。原田の研究では骨量に加えて軟部組織量と椎間板突出率との関係は低いながら正の相関を示し、骨のみでなく軟部組織も椎間板変性に関連すると考えられた。筋肉量に相当するLean Massが椎間板変性と低い正の相関を持つことは、今後の検討を要する。山田の研究ではTGF- β 1はOCIFを介して骨リモデリングに重要な役割を果たしていると考えられる。滑液ならびに血液中のOCIF濃度の上昇は、破骨細胞による骨吸収の亢進に起因する骨量減少に対する生体の代償機構と考えられる。現在、滑液中OCIF濃度と傍関節骨破壊との関連について検討中である。さらに我々は雪印乳業生物科学研究所との共同研究により破骨細胞分化促進因子(Osteoclast differentiation factor, ODF)のsoluble formについてもその滑液および血清中の濃度を測定中である。渡辺の研究ではTGF- β 作用の中でも数時間単位の早い段階ではHA合成酵素の発現誘導を介して、HA合成を高める可能性を示した。TGF- β によるECM分子の発現調節は関節症の進行に関連すると予想され、局所的なTGF- β 作用が問題である可能性が考えられた。また、TGF- β はメカニカルストレ

スにより発現誘導されることも知られており、局所的なストレスとの相関は興味深い。現在、我々は、TGF- β 作用を阻害する変異型受容体の遺伝子を含んだアデノウィルスベクターを得て、局所的なTGF- β 作用について、in vivoでの検討段階に移行するところである。

E. 結論

1, PGの合成は関節症の初期に亢進し、コラーゲン合成は軟骨マトリックスの破壊が進行した中等度の関節症で高まる変化を示した。ケラタン硫酸、コンドロイチン6硫酸の濃度も関節症初期に上昇する傾向を明らかとした。

2, TNF α 刺激での転写因子NF κ -Bの活性化抑制が高分子HAの作用下に認められるため、高分子HAは転写因子NF κ -Bの活性化抑制を介し、IL-8産生抑制に働くと結論した。高分子量HAの抗炎症効果が軟骨ではなく、滑膜に対して存在する可能性を示唆している。

3, 閉経後女性221名の腰椎MRIから椎間板面積と突出率を計測し、DXAによる全身骨BMDとBody Compositionとの関連を検討した結果、骨量と脂肪量および筋肉量は椎間板退行変性と逆相関することが示された。

4, TGF- β 1はOCIFを介して骨リモデリングに重要な役割を果たしており、傍関節骨破壊の成因に関与している可能性が示唆された。これらの分子メカニズムを解明することにより関節症の新しい治療法の開発が期待される。

5, 培養軟骨細胞、線維芽細胞においてTGF- β 群により、HA合成酵素遺伝子の一過性の発現誘導が検出された。また、高分子量HA合成能を獲得させるヒトHA合成酵素遺伝子を組み込んだアデノウィルスベクターを構築した。

変形性関節症における関節液中の病態マーカー分子の検討

主任研究者 岩田 久 名古屋大学医学部整形外科教授

研究要旨 関節液の分析により患者関節破壊の病態を理解と関節破壊の指標物質の開発を試みて検討した。関節液中および血清中MMP-1,-3及びTIMP-1,-2はELISA法にて測定、関節液中コンドロイチン4硫酸、6硫酸、ヒアルロン酸は分解後HPLCにて測定した。ケラタン硫酸は5-D-4 epitope、Type II collagen C-propeptideの測定にはELISA法を用いた。846epitopeも測定した。またMRIとX線写真によって変形性関節症の進行度を分類しそれぞれについて標的物質の関節液中濃度を比較した。関節液中のMMP, TIMP濃度の比較ではMMP-1,3 TIMP-1に相関が見られた。関節基質の分解にMMP-3が深く関わることと、非常に多量に罹患関節中で造られていることから、関節液MMP-3の測定は関節破壊の指標になる可能性があると思われた。とプロテオグリカンとコラーゲンの代謝は変形性関節症の進行に伴い異なる変化を示した。

A. 研究目的

関節液中の各種の物質の測定により関節破壊の病態を明らかとすること及び臨床所見との対比を試みることににより臨床症状の変化とその時点で起こる関節破壊の機序を理解する事、そして臨床的に用いる関節炎、関節症マーカー（関節破壊指標物質）の開発を目的とする。変形性関節症による関節炎の進行とこれら関節破壊に引き起こす物質と関節破壊により生じる物質関節破壊の修復に関連する物質などの種々の物質の関係を明らかにする目的で、特に関節破壊に関わることが近年注目を集めているマトリックスメタロプロテナーゼとその阻害物質であるTIMP, 関節軟骨基質からが由来すると考えられるグリコサミングリカン（GAG）を測定し、これと臨床症状、レントゲン所見との対比を試みた。

B. 研究方法

名古屋大学整形外科外来に通院中の変形性関節症患者のうち膝関節水腫を認め、穿刺によって膝関節液を得た者と、このうち膝関節レントゲン写真および膝関節MRIが有るものそれぞれ55名及び34名を今回調査対象とした。これら患者の検体は遠沈後上清のみを-80度に保存、測定に用いた。関節液中MMP-1,-3及びTIMP-1,-2はELISA法にて測定した。また関節液中コンドロイチン4硫酸、6硫酸、ヒアルロン酸は酵素処理にて2糖に分解後HPLCにて測定した。ケラタン硫酸は5-D-4 epitopeをELISAにて測定した。Type II collagen C-propeptideの測定にはELISA法を用いた。846 epitope of chondroitin sulfateはカナダマギール大Robin Poole博士によって測定した。レントゲン写真およびMRI分類はMinkらの方法を参考に用いて軽度・中等度・重度の3段階に分類した。

C. 研究結果

関節液中のMMP, TIMP濃度の比較ではMMP-1,3 TIMP-1に相関が見られた。関節基質の分解にMMP-3

が深く関わることと、非常に多量に罹患関節中で造られていることから、関節液MMP-3の測定は関節破壊の指標になる可能性があると思われた。プロテオグリカンの合成は変形性関節症の進行初期（レントゲン所見は無い、MRIでは所見あり）に亢進し、一方コラーゲンの合成は軟骨マトリックスの破壊が進行した中等度の関節症で高まる変化を示した。ケラタン硫酸、コンドロイチン6硫酸の濃度も変形性関節症初期に上昇する傾向を示した。

D. 考察

関節基質の破壊に関わる関節症の指標として関節液中で測定可能な物質は次の3種類の項目に分類されるが考えられる。即ち、1) 関節基質の破壊により関節液に流出したと考えられる物質、コンドロイチン6硫酸、一部の4硫酸、ケラタン硫酸、コラーゲン分解産物、各種架橋物質、2) 関節液の破壊に関わる酵素群とその阻害物質 コラゲナーゼ、ストロメライシン、白血球コラゲナーゼ、TIMP-1, TIMP-2等、3) 軟骨の再生に関わる物質 C-pro peptide of Type II collagen、846 epitope of chondroitin sulfate (Dr Robin Poole)等がある。変形性関節症に伴う関節液はその成因から関節病態を反映すると考えられる。関節液の分析によって関節炎、関節症の病態を明らかとしてそれらの予後予測に役立てようとの試みは臨床役割が大きいと考えられる。関節破壊については関節基質の破壊と合成のバランスが負に傾いた状態であり、特に変形性関節症ではこれが著しいと理解されている。MMP、TIMPの濃度の検討では、関節液中でMMP-3はMMP-1、TIMP-1濃度と相関を示した。FreeのTIMPがMMPの活性阻害に働くことを考えるとMMPの濃度上昇に伴いTIMP-1濃度上昇が観察されたことは興味深い。分解産物であるケラタン硫酸、コンドロイチン硫酸と分解に深く関わるコラゲナーゼ、ストロメライシンを初めとするMMP濃度に関係を見いだす

ことは出来なかった。一方コラーゲンとプロテオグリカンの再生に関わる Type II collagen C-propeptide と 846 epitope of chondroitin sulfate については変形性関節症の進行による差が見られむしろ合成系が病態に深く関わる可能性を示唆した。他の物質については明白な差は見られなかった。これは一つには現在のレ線評価では関節破壊の結果を見ている可能性が高く、現時点の関節破壊を評価していない事の反映であると思われる。

E. 結論

プロテオグリカンの合成は変形性関節症の進行初期（レントゲン所見は無い、MRIでは所見あり）に亢進し、一方コラーゲンの合成は軟骨マトリックスの破壊が進行した中等度の関節症で高まる変化を示した。ケラタン硫酸、コンドロイチン6硫酸の濃度も変形性関節症初期に上昇する傾向を明らかとした。

F. 研究発表

1. 論文発表

Yasumoto Matsui, Matsuyoshi Maeda, Wakao Nakagami, Hisashi Iwata

The involvement of matrix metalloproteinases and inflammation in lumbar disc herniation

Spine 23 : 863-869, 1998

Hiroyasu Okuizumi, Atsushi Harada, Hisashi Iwata, Nobuo Konishi

Effect on the femor of a new hip fracture preventive system using dropped-weight impact testing

J Bone Miner Res 13 : 1940-1945, 1998

Toshiki Iwase, Yukiharu Hasegawa, Naoki Ishiguro, Takayasu Ito, Seiki Iwasada, Shinji Kitamura, Hisashi Iwata

Synovial fluid cartilage metabolism marker concentrations in osteonecrosis of the femoral head compared with osteoarthritis of the hip

J Rheumatology 25 : 527-531, 1998

Takefumi Kato, Naoki Ishiguro, Hisashi Iwata, Toshihisa Kojima, Takayasu Ito, Kenji Naruse

Up-regulation of COX2 expression by uni-axial cyclic stretch in human lung fibroblast cells

Biophys Res Commun 244 : 615-619, 1998

Shinji Kitamura, Yukiharu Hasegawa, Sadao Suzuki, Ryuichiro Sasaki, Hisashi Iwata, Hans Wingstrand, Karl-Goran Thorngren

Functional outcome after hip fracture in Japan

Clin Orthop 348 : 29-36, 1998

2. 学会発表

第13回日本整形外科学会基礎学術集会

平成10年9月25日-27日

岩田 久

骨・関節疾患における細胞外マトリックスの意義一病態追求から人工関節の開発一

細胞外マトリックス構成物が細胞の代謝に与える影響
—特にその疾病に関連した意義について—

分担研究者 石黒 直樹 名古屋大学医学部整形外科講師

研究要旨 関節症では関節軟骨中の基質の破壊が起こっていることはよく知られている。関節軟骨基質の分解による産物が再び軟骨細胞、滑膜細胞に働いて細胞の代謝に影響を及ぼす可能性が考えられている。細胞外基質構成物の分子量などの状態がそこに存在する軟骨細胞、滑膜細胞の代謝への影響を検討することは、軟骨基質破壊の慢性化あるいは軟骨組織の修復の機序を理解することに役立つと考えられる。細胞外基質であるコラーゲン、グリコサミノグリカンあるいはその分解物と考えられる各種低分子物と質細胞代謝の関連を検討する事を目的として研究を行った。軟骨細胞、滑膜細胞で転写因子NF κ -BのTNF刺激による活性化機構が高分子ヒアルロン酸の添加によって抑制を受け、低分子ヒアルロン酸ではその抑制が見られない事を明らかとした。フィブロネクチンの分解産物では転写因子NF κ -Bの活性化を伴う炎症性サイトカインの産生は軟骨・滑膜細胞では見られなかった。

A. 研究目的

関節症では関節軟骨中の基質の破壊が起こっていることはよく知られている。関節軟骨基質の分解による産物が再び軟骨細胞、滑膜細胞に働いて細胞の代謝に影響を及ぼす可能性が考えられている。細胞外基質構成物の分子量などの状態がそこに存在する軟骨細胞、滑膜細胞の代謝への影響を検討することは、軟骨基質破壊の慢性化あるいは軟骨組織の修復の機序を理解することに役立つと考えられる。細胞外基質であるコラーゲン、グリコサミノグリカンあるいはその分解物と考えられる各種低分子物と質細胞代謝の関連を検討する事を目的として研究を行った。軟骨細胞、滑膜細胞で転写因子NF κ -BのTNF刺激による活性化機構が高分子ヒアルロン酸の添加によって抑制を受け、低分子ヒアルロン酸ではその抑制が見られない事を明らかとした。フィブロネクチンの分解産物では転写因子NF κ -Bの活性化を伴う炎症性サイトカインの産生は軟骨・滑膜細胞では見られなかった。

B. 研究方法

ヒト軟骨組織由来細胞株HCS 2 / 8とRA患者より採取した滑膜細胞を用い、各種分子量（3kD, 30kD, 200kD, 300kD, 900kD, 2000kD）のヒアルロン酸 1mg/ml を20時間作用させた後、TNF α 刺激を10時間作用させ培養液を回収し、ELISA法にてIL-8を測定した。またTNF α 刺激を1時間作用させ細胞を回収し、細胞核分画を利用してEMSA法にて転写因子NF κ -Bの活性化を観察した。

C. 研究結果

ヒト軟骨組織由来細胞株HCS2/8では、どの分子割こにおいてもIL-8の分泌量の明らかな変化はみられなかった、一方、高分子量のHA（900kD, 2000止D）を作用させたRA滑膜細胞ではTNF α 刺激によるIL-8の分泌量が低下する傾向が認められた。これはEMSA法によって転写因子NF κ -Bの活性化の抑制が高分子ヒアルロン酸に認められるためであると推論した。

D. 考察

各種細胞外マトリックスの正常な前駆体が、断片化することにより生物活性を発揮する可能性についてはいくつかの報告がある。コラーゲンの断片はマクロファージを活性化する。関節軟骨を用いた実験ではフィブロネクチンの断片はMMPの分泌量を促進すると言う報告がある。また、低分子量ヒアルロン酸はマクロファージ/単球系細胞において転写因子NF- κ Bの活性化を介してIL-8を初めとする炎症性ケモカインの産生を促進するといわれている。しかし、ヒアルロン酸分子量の違いによる軟骨細胞・滑膜細胞への効果の違いについては明らかではない。高分子量のヒアルロン酸は、低分子量のヒアルロン酸との高次構造の違いやレセプターへの拮抗により、異なった細胞内シグナルの伝達を行っている可能性が考えられる。今回の結果は関節組織において細胞外マトリックスの分子量の違いが細胞の代謝に影響を及ぼしうることを示したものである。高分子量のヒアルロン酸が持つ関節軟骨の保護・代謝改善・修復促進作用に加えて、従来あまり明らかでなかった抗炎症効果の有無について一軟骨ではなく、滑

膜に対して存在する可能性を示唆していると考え。関節炎・症では一般的にヒアルロン酸の低分子化が見られ、このことが関節破壊慢性化に単に機械的な潤滑効果のみならず、生物学的な作用も保ちうることを明らかにした点で意義が大きいと考える。

E. 結論

TNF α 刺激での転写因子NF κ -Bの活性化抑制が高分子ヒアルロン酸の作用下に認められるため、高分子ヒアルロン酸は転写因子NF κ -Bの活性化抑制を介し、IL-8産生抑制に働くことを結論した。高分子量のヒアルロン酸が持つ関節軟骨の保護・代謝改善・修復促進作用に加えて、従来あまり明らかでなかった抗炎症効果の有無について一軟骨ではなく、滑膜に対して存在する可能性を示唆していると考えた。

F. 研究発表

1. 論文発表

Toshihisa Kojima, Osamu Miyaishi, Shinsuke Saga, Naoki Ishiguro, Yoshihiro Tsutsui, Hisashi Iwata
The retention of abnormal type I collagen in fibroblasts from patients with lethal osteogenesis imperfecta and correlated expression of HSP 47
J Pathol 184, 212-218, 1998

Naoki Ishiguro, Yusuke Iwahori, Takefumi Kato, Takayasu Ito, Toshihisa Kojima, J. Takamatsu, Hisashi Iwata

The surgical treatment of a hemophilic pseudotumor in an extremity. - a report of three cases with pathologic fractures
Hemophilia 4, 126-131, 1998

Yusuke Iwahori, Naoki Ishiguro, Takuya Shimizu, Seiji Kondo, Yuichiro Yabe, Takeshi Oshima, Hisashi Iwata, F. Sendo

Selective neutrophil depletion with monoclonal antibodies attenuates ischemia-reperfusion injury in skeletal muscle.
Journal of Reconstructive Microsurgery 14, 109-116, 1998

Toshio Miyata, Naoki Ishiguro, Yoshinari Yasuda, Takayasu Ito, Masaomi Nangaku, Hisashi Iwata, Kiyoshi Kurokawa

Increased pentosidine, an advanced glycation end product, in plasma and synovial fluid from patients with rheumatoid arthritis and its relation with inflammatory markers.

Biochem Biophys Res Commun 244, 45-49, 1998
Kazutoshi Kurokouchi, Fukushi Kanbe, Kou

Yasukawa, Ryotaro Izumi, Naoki Ishiguro, Hisashi Iwata, Hisao Seo

TNF- α increases expression of IL-6 and ICAM-1 genes through activation of NF- κ B in osteoblast-like ROS17/2.8 cells.

J Bone Miner Res 13, 1290-1299, 1998

2. 学会発表

第71回日本整形外科学会 徳島 1998.4.17-20

石黒直樹 他

軟骨再生：軟骨再生の過程とそれに関わる分子について

第71回日本整形外科学会 徳島 1998.4.17-20

石黒直樹 他

変形性関節症の治療：特に薬物を中心とした治療の生物学

厚生科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
分担研究報告書

変形性脊椎症に対するMRIによる検討—椎間板変性
と骨量、筋肉量、脂肪量の関連について

分担研究者 原田 敦 国立療養所中部病院整形外科医長

変形性脊椎症の重症度と全身の骨量および軟部組織量との関係を腰椎MRIとDEXAによる骨量測定とBody Compositionで検討した結果、椎間板突出率と各組織量は正の相関を持ち、変形性脊椎症の病態に骨のみならず、脂肪や筋肉量も関連している可能性が示された。

A. 研究目的

脊椎における変形性関節症である変形性脊椎症は、高齢者のQOLを低下させる代表的な疾患の一つで、特に椎間板圧縮膨隆や靭帯肥厚、関節周辺の骨増殖などが高度になると、脊柱管狭窄症を生じ、脊髄神経根の圧迫を引き起こして疼痛と麻痺によって高齢者の運動能力を大いに損なう結果となることが大きな問題となっている。本疾患は膝関節と並んで非常に頻度が高く、古くから知られていたのにもかかわらず、その病態にはいまだ不明の点が多い。脊椎自体に内在する局所因子については多数の研究があるが、脊椎以外の全身的要因と変形性脊椎症の関連については、多くの未解決な部分が残されている。我々は今までに、椎間板変性の指標となる椎間板圧縮度および突出度と骨量が相反する関係にあるという結果を報告してきたが、今回は症例をさらに増やして骨量のみでなく、筋肉・脂肪など軟部組織量と椎間板退行変性との関係をも検討したので報告する。

B. 研究方法

本研究は前向き調査による横断研究である。従来の研究では、変形性脊椎症の重症度に対する評価に脊椎単純レ線像が使用されてきたが、椎間板退行変性が変形性脊椎症の本態であることを考慮すれば、椎間板そのものを画像化できるMRIが最適の評価法といえる。そこで本研究では腰椎MRIによる評価法を採用した。腰痛などで国立療養所中部病院整形外科を受診した閉経後女性で腰痛等の診断にMRIを必要とする症例に、閉経後あるいは退行期骨粗鬆症のスクリーニングを兼ねて全身骨骨量検査を行った。施行前には両検査の意義を十分に説明し、同意を得て行った。その中から悪性腫瘍や慢性関節リウマチなど重大な合併症、既往症を有する者を除外した221名を調査対象とした。年齢は46歳から90歳まで平均68.9歳であった。椎間板変性の評価は、MRI（Siemens Magnetom M10 1.0 テスラおよび東芝

VISART1.5 テスラ) による腰椎 T1 強調矢状断像をスキャナーにてパソコンに取り込み、4つの椎間板の平均面積と前方および後方への平均椎間板突出面積を面積計算ソフトにて計算した。椎間板突出面積を椎間板面積で除して椎間板突出率を求めた。骨量と軟部組織量は二重エックス線吸収法 (DEXA) を Lunar 社 DPX を用いて行い、全身骨骨密度 (BMD) と同時に計測される Body Composition から脂肪量、筋肉量に相当する Lean Mass、Bone Mineral Content (BMC) も評価した。全身骨 BMD は年齢の影響を除外するために、年齢補正值での検討も行った。これらの全身の骨量および軟部組織量と椎間板計測値との関係を Stat View 4.02 を使用して検討した。p<0.05 を有意とした。

C. 研究結果

221 名の身体計測値 (平均±標準偏差) は、体重 49.5 ± 8.8 kg、身長 149.2 ± 6.8 cm、Body Mass Index (BMI) 22.2 ± 3.3 kg/m² であった。全身骨 BMD は、 0.936 ± 0.129 g/cm² で、その同年齢正常データによる年齢補正值は、 101 ± 9.6 % であった。脂肪量は 11590 ± 5708 g、Lean Mass は 36132 ± 4473 g、BMC は 1703 ± 416 g であった。腰椎椎間板面積は 218.5 ± 70.2 mm²、前後への椎間板突出面積は 18.3 ± 15.3 mm²、椎間板突出率は 8.8 ± 7.2 % であった。椎間板計測値と骨量、組織量との間に低いながらも、

以下のような相関が認められた。椎間板面積は、全身骨 BMD ($r=-0.262$, $p>0.0001$) とその年齢補正值 ($r=-0.242$, $p=0.0003$) との間に負の相関を有し、椎間板突出率は正の相関 ($r=0.198$, $p=0.0037$ および $r=0.281$, $p<0.0001$) を有していた。さらに BMC と椎間板面積および椎間板突出率との間に同様な相関が認められ ($r=0.166$, $p=0.0148$ および $r=0.209$, $p=0.0024$)、脂肪量も椎間板面積と負の相関 ($r=-0.158$, $p=0.0209$)、椎間板突出率と正の相関 ($r=0.141$, $p=0.0416$) がみられた。Lean Mass は椎間板面積とは関連が無く、椎間板突出率との間に正の相関 ($r=0.170$, $p=0.0138$) という結果であった。ステップワイズ回帰により得られた回帰式は、椎間板突出率 $= -33.1036 + 0.1547 \times$ 年齢 $+ 0.2021 \times$ 全身骨 BMD 年齢補正值 $+ 0.0003 \times$ Lean Mass ($R^2=0.130$, $p<0.0001$) となり、各組織量のうち脂肪量の与える影響は、骨量や筋肉量より低いと判断された。ほかに身体計測値に関しては、椎間板突出率との間に体重 ($r=0.182$, $p=0.007$) と BMI ($r=0.204$, $p=0.0025$) が正の相関を有していた。

D. 考察

脊椎における変形性関節症である変形性脊椎症の本態は椎間板退行変性にあると考えられ、椎間板そのものを観察できる MRI による評価は正確で有用であり、今回の検討では、

椎間板変性評価には、MRI矢状断における椎間板面積と椎間板突出率を用いた。椎間板面積は、レ線像での椎間板高の測定などより正確に椎間板圧縮度および萎縮度を反映するものと考えられ、椎間板突出率は、レ線像にみられる骨棘と比較して、椎間板が圧縮されて前後へ膨隆する度合いをより直接的に数値化でき、椎間板変性のよい指標となるものと思われた。先に我々はMRIを使用して86例の閉経女性で骨量と椎間板退行変性との相反した関係を報告したが、今回の221例の検討でも、骨量と椎間板変性の間で、同じ結果が得られた。骨と軟骨の退行変性に相互作用があるかどうかについては、いまだ議論の多いところである。いずれにしても今回の椎間板変性と骨量の関係には多数の局所因子と全身因子が関与すると思われるが、この点を解明する上で多くの全体的要因と椎間板変化との関係のさらなる検討は大変重要である。今回、骨量に加えて軟部組織量と椎間板突出率との関係を検討したところ、脂肪量とLean Massはともに低いながら正の相関を示し、骨のみでなく軟部組織も椎間板退行変性に関連する可能性が考えられた。これは、軟部組織量が体重という脊椎への荷重負荷を通じて、椎間板障害憎悪に関与する可能性がまず考慮されるが、なかでも筋肉量に相当するLean Massが椎間板変性と低い正の相関を持つことは、脊椎の退行変性を予防するため

に筋力増強が有効であるとされている従来の説と相反する結果であり、今後の十分な検討を要する。

E. 結論

閉経後女性221名の腰椎MRIから椎間板面積と突出率を計測し、DXAによる全身骨BMDとBody Compositionとの関連を検討した結果、骨量と脂肪量および筋肉量は椎間板退行変性と逆相関することが示された。

F. 研究業績

1. 論文発表

① A Harada, H Okuizumi, N Miyagi, E Genda: Correlation between bone mineral density and intervertebral disc degeneration. Spine 23: 857-861, 1998.

2. 学会発表

① 原田敦、奥泉宏康、武上泰光：椎間板退行変性とBody Composition. 第27回日本脊椎外科学会、1998.

厚生科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
分担研究報告書

変形性関節症の発症進展における TGF- β 作用と細胞外マトリックスについての基礎的
検討

分担研究者 渡辺 研

国立療養所中部病院長寿医療研究センター
老年病研究部 運動・感覚機能研究室 室長

変形性関節症の発症や進展において、その病態と深く関わりのある TGF- β スーパーファミリーに属する TGF- β や骨形成因子 (BMP) に、関節軟骨細胞や関節部、周囲部の線維芽細胞群が応答して、ヒアルロン酸合成酵素遺伝子発現を誘導することを見いだした。また、ヒアルロン酸合成酵素遺伝子を組み込んだアデノウィルスを作製し、ヒアルロン酸合成を顕著に上昇させるベクター系を構築した。

A. 研究目的

Transforming growth factor- β (TGF- β) 群は、activin や BMP とともに、その一次構造の類似から分類されるスーパーファミリーを形成するサイトカインの一群である。この TGF- β 群は細胞外マトリックス分子の発現を調節を行っていることが知られているが、細胞外マトリックスと病態の深い関連が認知されている変形性関節症においては、その作用について相反した報告がなされており、統一の見解が得られていない。そこで、TGF- β 作用を細胞内シグナル伝達レベルで検索することにより、その作用を関節構成細胞ごとに細分化することを目的とする。また、我々がこの研究の過程で見いだした TGF- β によるヒアルロン酸合成酵素の発現誘導の事実から、連続的な TGF- β 作用の細分化と、新しい治療法への基礎的検討を併せて考慮し、ヒアルロン酸合成酵素の細胞選択性の低いアデノウィルスによる発現系を構築する。

B. 研究方法

TGF- β 作用の研究：マウス軟骨細胞株 ATDC5 ならびにヒト胎児由来二倍体線維芽細胞株 IMR90, MJ90 を低血清濃度条件において、TGF- β 処理もしくは BMP 処理し、三種類のヒアルロン酸合成酵素遺伝子 (Has1, Has2, Has3) の発現変化をノーザン分析により検討を行った。ヒアルロン酸合成酵素遺伝子ベクターの構築：非増殖性アデノウィルスベクターは、東京大学医科学研究所斎藤泉教授よりご供与いただいた。ウイルス DNA は、大腸菌内で増幅し、平滑末端化したヒトヒアルロン酸合成酵素 (Has2) cDNA を組み込んだ。ウイルス化は、293 細胞において遺伝子相同組換えにより行った。ヒアルロン酸合成量はヒアルロン酸プレート（中外製薬（株））により測定を行った。

C. 研究結果

1. TGF- β 群によるヒアルロン酸合成酵素遺伝子の発現誘導

ヒアルロン酸合成酵素遺伝子のうち、Has1 と Has2 がマウス軟骨細胞株 ATDC5 において発現しており、*in vitro* の分化系による、分化段階での発現変化はあまり認められなかった。しかし、TGF- β 処理群においては、処理後1時間より発現が亢進し、3～6時間をピークとする一過性の Has2 遺伝子発現誘導が観察された。BMP 処理においても同様の発現上昇が確認された。また、この発現は TGF- β 、BMP ともにサイトカイン濃度依存的に亢進した。一方、ハウスキーピング遺伝子と考えられる Has1 遺伝子の発現変化は見られなかった。

ヒト線維芽細胞においては、Has1, Has2, Has3 の三遺伝子ともに発現が認められた。使用したヒト線維芽細胞株においては、BMP 受容体の存在が確認されていないため、TGF- β 処理のみとしたが、Has2 遺伝子の発現は濃度依存的に亢進した。

2. ヒアルロン酸合成酵素遺伝子を組み込んだアデノウィルスベクターの構築
三種類のヒアルロン酸合成酵素遺伝子のなかでも、ヒアルロン酸合成量が高く、また、高分子量のヒアルロン酸を合成する Has2 遺伝子をコードする Has2 cDNA をアデノウィルスベクターへ挿入した。アデノウィルスベクターは、比較的細胞選択性の低い発現プロモータである CAG プロモータにより、挿入遺伝子の発現が誘導される pAxCA タイプのものを使用した。Has2 cDNA のうち、ヒアルロン酸合成酵素のアミノ酸翻訳配列に N 末端翻訳開始部位に翻訳開始コンセンサス配列 (Kozak sequence) を付し、発現効率を高める設計を行った。また、導入遺伝子の発現ならびに導入により発現誘導されるヒアルロン酸合成酵素分子

を確認するために C 末端にはその酵素活性に影響を与えない形で、エプータグ (hemagglutinin tag) を結合した。ヒト胎児腎臓由来で Ad5 により形質転換されている 293 細胞において、相同的組換えにより、ウィルス産生細胞を得た。ウィルス産生細胞の培養上清を濃縮し、力価を測定した。このヒトヒアルロン酸合成酵素遺伝子を含むウィルスは 293 細胞をはじめ、各種培養細胞において、コントロール (同力価で感染させた b-ガラクトシダーゼ遺伝子を発現するウィルス) に比べ、十数倍から数百倍までにヒアルロン酸合成量が上昇した。動物実験による *in vivo* でのアデノウィルス (コントロールウィルス) の関節内感染予備実験では、滑膜細胞に発現が認められ、一部の関節軟骨細胞にも感染して遺伝子導入が行われていることが確認された。

D. 考察

一般的に TGF- β により発現誘導することが知られている細胞外マトリックス分子としては、Fibronectin, Fibrinogen, そして、TGF- β のシグナリング研究にも使用されている Plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1)などが知られており、マトリックス等の線維化との関わりが深い分子群であり、変形性関節症においては病態の進行との関連が考えられた。しかし、今回の実験より、TGF- β 作用の中でも数時間単位の早い段階ではヒアルロン酸合成酵素の発現誘導を介して、ヒアルロン酸合成を高める可能性を示し、また、軟骨細胞ではコンドロイチン硫酸プロテオグリカンである aggrecan の発現を誘導することが報告されていることから、軟骨の形態維持の方向への関与が考えられた。しかしながら、これらの発現誘導は一過性で、時間経過とともに定常

レベルへと低下する。最近発表された TGF- β 作用を阻害する変異型受容体の遺伝子導入マウスでは、変形性関節症様病変を示すことから、TGF- β 作用は軟骨形態維持に必要であるとされているが、発達時の細胞外マトリックス構築の異常や軟骨細胞の増殖・分化に異常を来しているものと考えられ、一義的に変形性関節症の発症・進行要因との結論を出すのは尚早であると考えられた。むしろ、TGF- β による細胞外マトリックス分子の発現調節は病態の進行に関連すると予想され、局所的な TGF- β 作用が問題である可能性が考えられた。また、TGF- β はメカニカルストレスにより発現誘導されることも知られており、局所的なストレスとの相関は興味深い。現在、我々は、TGF- β 作用を阻害する変異型受容体の遺伝子を含んだアデノウィルスベクターを得て、局所的な TGF- β 作用について、*in vivo*での検討段階に移行するところである。

expression of the hyaluronan synthase Has2 enhances anchorage-independent growth. *Cancer Res.* 59:1141-5 (1999)

E. 結論

培養軟骨細胞、線維芽細胞において TGF- β 群 (TGF- β および BMP) により、ヒアルロン酸合成酵素遺伝子の一過性の発現誘導が検出された。

また、高分子量のヒアルロン酸合成能を獲得させるヒトヒアルロン酸合成酵素遺伝子を組み込んだアデノウィルスベクターを構築した。

F. 引用文献

岩田久 新名正由編「関節マーカー」
メディカルレビュー社 1997年

G. 研究発表

論文発表

R. Kosaki, K. Watanabe et al.

Overexpression of hyaluronan by

高齢者の変形性関節症の成因および病態に関する総合的研究

分担研究課題：変形性膝関節症の発症進展におけるTGF- β 1およびOCIFの役割

分担研究者 山田芳司 国立長寿医療研究センター老年病研究部室長

研究要旨 ストローマ細胞・骨芽細胞の培養系および変形性膝関節症例の関節液を用いて、変形性膝関節症の病態におけるOCIFおよびTGF- β 1の役割について検討した。TGF- β 1は骨髄ストローマ細胞によるOCIFの産生分泌を増加させ、破骨細胞形成を抑制した。変形性膝関節症例では慢性関節リウマチ例に比べ滑液中OCIF濃度が高く、さらに膝関節症の重症度に依存してその濃度が上昇した。OCIFおよびTGF- β 1は骨リモデリングに重要な役割を果たしており、変形性膝関節症の病態、とりわけ傍関節骨破壊の成因に関与している可能性が示唆された。

A. 研究目的

変形性膝関節症は罹患者数が非常に多く、疼痛のための運動機能障害やQOLの低下を生じるため、その有効な治療法の開発は高齢者医療において重要な課題である。近年、破骨細胞の分化を抑制するタンパクである Osteoclastogenesis inhibitory factor (OCIF)/Osteoprotegerinが発見され、これが破骨細胞の骨吸収を抑制することにより骨量を増加させる作用を有することが明らかになったが、変形性膝関節症における関節局所でのOCIFの役割は不明である。一方、変形性膝関節症の病態におけるTGF- β の役割は重要であるにもかかわらず不明の点が多く、OCIFとの相互作用についても未知である。これらの点を解明し変形性膝関節症の病態を明らかにすることは、より有効な治療法の開発を進める上で重要である。本研究の目的は、骨芽細胞やストローマ細胞におけるOCIFとTGF- β 1の相互作用について検討し、関節液中のそれらの濃度を測定することによりin vitroでの現象と生体内での発症病理との結びつきを解明し、変形性膝関節症の発症進展におけるこれらのサイトカインの意義を明らかにすることにある。

B. 研究方法

ストローマ細胞株であるST2、PA6および骨芽細胞株であるMC3T3-E1の培養系を用いてTGF- β 1がOCIFの産生に及ぼす影響について、OCIFの活性、タンパク量、mRNA発現量、mRNA安定性への作用等について検討した。さらに、マウス骨髄細胞の培養系を用いて、TGF- β 1およびOCIFの破骨細胞形成に対する作用について検討した。また変形性膝関節症130例および慢性関節リウマチ30例より採取した滑液ならびに健常者および骨粗鬆症242例から得られた血清中のOCIF濃度をELISAシステムを用いて測定した。

C. 研究結果

種々のストローマ細胞や骨芽細胞においてはTGF- β 1がOCIFのmRNA発現を誘導し、産生分泌を促進した。さらに、この作用はOCIF mRNAの転写促進および安定性増加の両者によるものであった。骨髄細胞の培養系では、OCIFおよびTGF- β 1はいずれも破骨細胞の形成を著明に抑制し、またTGF- β 1の抑制作用の一部はOCIFを介する効果であった(Takai H, et al. J Biol Chem 1998;273:27091-27096)。変形性膝関節症では慢性関節リウマチに比べ滑液中OCIF濃度が約2倍高く、さらに膝関節症の重症度に依存してその濃度が上昇した。また滑液中のOCIF濃度は変形性膝関節症では血中濃度の約8倍、慢性関節リウマチでは約4倍といずれも高値であった。一方、血中OCIF濃度は加齢と共に有意に増加し、骨粗鬆症例では同年齢の正常者に比べ血中濃度が有意に上昇していた(Yano K, et al. J Bone Miner Res, in press)。

D. 考察

ストローマ細胞・骨芽細胞の培養系および変形性膝関節症例の関節液を用いて関節局所におけるOCIFおよびTGF- β 1の役割およびこれらのサイトカインの相互作用について分子レベルで検討した。今回の結果から、TGF- β 1が骨髄ストローマ細胞においてOCIF mRNAの発現を誘導することによりOCIFの産生分泌を増加させ、破骨細胞形成を抑制することが明らかになった。このようにTGF- β 1はOCIFを介して骨リモデリングに重要な役割を果たしていると考えられる。滑液ならびに血液中のOCIF濃度の上昇は、破骨細胞による骨吸収の亢進に起因する骨量減少に対する生体の代償機構と考えられる。現在、滑液中OCIF濃度と傍関節骨破壊との関連について検討中である。さらに我々は雪印乳業生物科学研究所との共同研究により破骨細胞分化促進因子(Osteoclast differentiation factor, ODF)のsoluble formについてもその滑液および血清中の濃度を測定中である。破骨細胞の形成においてはその抑制因子であるOCIFと

促進因子であるODFのバランスが重要であり、変形性膝関節症および慢性関節リウマチ例の滑液中のそれぞれの濃度を測定することにより、傍関節骨破壊の病態が明らかになることが期待される。

E. 結論

TGF- β 1はOCIFを介して骨リモデリングに重要な役割を果たしており、変形性膝関節症の病態、とりわけ傍関節骨破壊の成因に関与している可能性が示唆される。これらの分子メカニズムを解明することにより変形性膝関節症の新しい治療法の開発が期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yano Y, Tsuda E, Washida N, Kobayashi F, Goto M, Harada A, Ikeda K, Higashio K, Yamada Y.
Immunological characterization of circulating osteoprotegerin /osteoclastogenesis inhibitory factor: Increased serum concentrations in postmenopausal women with osteoporosis.
J Bone Miner Res (in press).
- 2) Yamada Y, Hosoi T, Makimoto F, Tanaka H, Seino Y, Ikeda K.
Transforming growth factor (TGF)- β 1 gene polymorphism and bone mineral density in Japanese adolescents.
Am J Med (in press).
- 3) Takai H, Kanematsu M, Yano K, Tsuda E, Higashio K, Ikeda K, Watanabe K, Yamada Y.
Transforming growth factor- β stimulates the production of osteoprotegerin/osteoclastogenesis inhibitory factor by bone marrow stromal cells.
J Biol Chem 1998;273:27091-27096.
- 4) Yamada Y, Miyauchi A, Goto J, Takagi Y, Okuizumi H, Kanematsu M, Hase M, Takai H, Harada A, Ikeda K.
Association of a polymorphism of the transforming growth factor- β 1 gene with genetic susceptibility to osteoporosis in postmenopausal Japanese women.
J Bone Miner Res 1998;13:1569-1576.
- 5) Kameda T, Mano H, Yamada Y, Takai H, Amizuka N, Kobori M, Izumi N, Kawashima H, Ozawa H, Ikeda K, Kameda A, Hakeda Y, Kumegawa M.
Calcium-sensing receptor in mature osteoclasts, which are bone resorbing cells.
Biochem Biophys Res Commun 1998;245:419-422.

2. 学会発表

- 1) 山田芳司、原田敦、奥泉宏康、後藤純規、池田恭治
加齢および骨粗鬆症におけるOsteoclastogenesis

inhibitory factor (OCIF)の役割

第40回老年医学会学術集会、福岡、平成10年6月

- 2) 山田芳司、高井裕之、兼松雅博、池田恭治、原田敦、奥泉宏康、宮内章光、高木康行
TGF- β 1遺伝子多型と閉経後骨粗鬆症
第16回日本骨代謝学会、東京、平成10年8月
- 3) 高井裕之、兼松雅博、矢野和樹、津田英資、東尾侃二、渡辺 研、池田恭治、山田芳司
TGF- β 1は骨髄ストローマ細胞におけるOsteoclastogenesis Inhibitory Factor/Osteoprotegerinの産生を誘導する
第16回日本骨代謝学会、東京、平成10年8月
- 4) Yamada Y, Harada A, Miyauchi A, Goto J, Hosoi T, Makimoto F, Tanaka H, Seino Y, Ikeda K.
Identification of a polymorphism of the TGF- β 1 gene as a genetic determinant of the bone mass and a susceptibility factor to osteoporosis.
Second Joint Meeting of The American Society for Bone and Mineral Research and The International Bone and Mineral Society, San Francisco, USA, December 1998.
- 5) Takai H, Kanematsu M, Yano K, Tsuda E, Higashio K, Ikeda K, Watanabe K, Yamada Y.
TGF- β stimulates the production of osteoprotegerin /osteoclastogenesis inhibitory factor by bone marrow stromal cells.
Second Joint Meeting of The American Society for Bone and Mineral Research and The International Bone and Mineral Society, San Francisco, USA, December 1998.
- 6) Kanematsu M, Takai H, Sato T, Watanabe K, Ikeda K, Yamada Y.
RANKL induced on pre-B cells by prostaglandin E2 may be involved in the pathogenesis of osteoporosis.
Second Joint Meeting of The American Society for Bone and Mineral Research and The International Bone and Mineral Society, San Francisco, USA, December 1998.

研究成果の刊行に関する一覧表

- Y. Matsui, M. Maeda, W. Nakagami, H. Iwata
The involvement of matrix metalloproteinases and inflammation in lumbar disc herniation
Spine 23 : 863-869, 1998
- H. Okuizumi, A. Harada, H. Iwata, N. Konishi
Effect on the femor of a new hip fracture preventive system using dropped-weight impact testing
J Bone Miner Res 13 : 1940-1945, 1998
- T. Iwase, Y. Hasegawa, N. Ishiguro, T. Ito, S. Iwasada, S. Kitamura, H. Iwata
Synovial fluid cartilage metabolism marker concentrations in osteonecrosis of the femoral head compared with osteoarthritis of the hip
J Rheumatology 25 : 527-531, 1998
- T. Kato, N. Ishiguro, H. Iwata, T. Kojima, T. Ito, K. Naruse
Up-regulation of COX2 expression by uni-axial cyclic stretch in human lung fibroblast cells
Biophys Res Commun 244 : 615-619, 1998
- S. Kitamura, Y. Hasegawa, S. Suzuki, R. Sasaki, H. Iwata, Hans Wingstrand, Karl-Goran Thorngren
Functional outcome after hip fracture in Japan
Clin Orthop 348 : 29- 36, 1998
- T. Kojima, O. Miyaishi, S. Saga, N. Ishiguro, Y. Tsutsui, H. Iwata
The retention of abnormal type I collagen in fibroblasts from patients with lethal osteogenesis imperfecta and correlated expression of HSP 47
J Pathol 184 : 212-218, 1998
- N. Ishiguro, Y. Iwahori, T. Kato, T. Ito, T. Kojima, J. Takamatsu, H. Iwata
The surgical treatment of a hemophilic pseudotumor in an extremity. - a report of three cases with pathologic fractures
Hemophilia 4 : 126-131, 1998
- Y. Iwahori, N. Ishiguro, T. Shimizu, S. Kondo, Y. Yabe, T. Oshima, H. Iwata, F. Sendo
Selective neutrophil depletion with monoclonal antibodies attenuates ischemia -reperfusion injury in skeletal muscle.
J Reconstr Microsurg 14 : 109-116, 1998
- T. Miyata, N. Ishiguro, Y. Yasuda, T. Ito, M. Nangaku, H. Iwata, K. Kurokawa
Increased pentosidine, an advanced glycation end product, in plasma and synovial fluid from patients with rheumatoid arthritis and its relation with inflammatory markers.
Biochem Biophys Res Commun 244 : 45-49, 1998

K. Kurokouchi, F. Kanbe, K. Yasukawa, R. Izumi, N. Ishiguro, H. Iwata, H. Seo
TNF- α increases expression of IL-6 and ICAM-1 genes through activation
of NF- κ B in osteoblast-like ROS17/2.8 cells.
J Bone Miner Res 13 :1290-1299, 1998

A. Harada, H. Okuizumi, N. Miyagi, E. Genda
Correlation between bone mineral density and intervertebral disc
degeneration
Spine 23 :857-861, 1998.

R. Kosaki, K. Watanabe et al.
Overexpression of hyaluronan by expression of the hyaluronan synthase
Has2 enhances anchorage-independent growth
Cancer Res 59 :1141-1145, 1999 (in press)

Y. Yano, E. Tsuda, N. Washida, F. Kobayashi, M. Goto, A. Harada, K. Ikeda, K.
Higashio, Y. Yamada
Immunological characterization of circulating osteoprotegerin
/osteoclastogenesis inhibitory factor: Increased serum concentrations in
postmenopausal women with osteoporosis
J Bone Miner Res (in press)

Y. Yamada, T. Hosoi, F. Makimoto, H. Tanaka, Y. Seino, K. Ikeda
Transforming growth factor (TGF)- β 1 gene polymorphism and bone
mineral density in Japanese adolescents
Am J Med (in press)

H. Takai, M. Kanematsu, K. Yano, E. Tsuda, K. Higashio, K. Ikeda, K.
Watanabe, Y. Yamada
Transforming growth factor- β stimulates the production of
osteoprotegerin/osteoclastogenesis inhibitory factor by bone marrow
stromal cells.
J Biol Chem 273 :27091-27096,1998

Y. Yamada, A. Miyauchi, J. Goto, Y. Takagi, H. Okuizumi, M. Kanematsu, M.
Hase, H. Takai, A. Harada, K. Ikeda
Association of a polymorphism of the transforming growth factor- β 1 gene
with genetic susceptibility to osteoporosis in postmenopausal Japanese
women
J Bone Miner Res 13 :1569-1576, 1998

T. Kameda, H. Mano, Y. Yamada, H. Takai, N. Amizuka, M. Kobori, N. Izumi, H.
Kawashima, H. Ozawa, K. Ikeda, A. Kameda, Y. Hakeda, M. Kumegawa
Calcium-sensing receptor in mature osteoclasts, which are bone resorbing
cells
Biochem Biophys Res Commun 245 :419-422,1998

19980167

報告書 P. 18-23は下記に掲載

The Involvement of Matrix Metalloproteinases and Inflammation in Lumbar Disc Herniation.

Yasumoto Matsui, Matsuyoshi Maeda, Wakao Nakagami, and Hisashi Iwata
SPINE. Volume 23. Number 8, pp 863-869, c1998

19980167

報告書 P. 24－29は下記に掲載

**Effect on the Femur of a New Hip Fracture Preventive System Using
Dropped-Weight Impact Testing**

Hiroyasu Okuizumi, Atsushi Harada, Hisashi Iwata, and Nobuo Konishi

Journal of Bone and Mineral Research. Volume 13, Number 12, pp.1940-
1945, 1998