

厚生労働科学研究費補助金
長寿科学総合研究事業

高齢者の骨・関節疾患の予防・治療法の開発と
疼痛緩和対策に関する研究

平成14年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 岩本幸英

平成15年 4月

目 次

I. 総括研究報告

- 高齢者の骨・関節疾患の予防・治療法の開発と疼痛緩和対策に関する研究 1
主任研究者 岩本幸英

II. 分担研究報告

1. 手指の変形性関節症と generalized osteoarthritis の関連についての疫学的検討 7
主任研究者 岩本幸英
研究協力者 三浦裕正, 高杉紳一郎, 河野 勤
2. 中高齢女性の骨密度減少に関連する因子 10
主任研究者 岩本幸英
研究協力者 高杉紳一郎, 三浦裕正, 真鍋尚至
3. 腰痛関連アウトカム指標の経時的変化と相互関連
—腰痛関連モデルを用いた縦断研究 13
分担研究者 菊地臣一
4. 変性関節軟骨の修復へ向けた細胞遺伝子治療 15
分担研究者 木村友厚
研究協力者 川口善治, 下条竜一, 杉森一仁, 片山理恵
5. マウスにおける変形性関節症 (OA) 誘発モデルの確立 17
分担研究者 中村耕三
研究協力者 星地亜都司, 川口 浩, 星 和人, 亀倉 暁
6. 変形性膝関節症男性患者における症状重篤度予測因子
—患者調査より— 19
分担研究者 廣田良夫
研究協力者 近藤亨子, 田中 隆
7. 高齢者の転倒・骨折の病態とその予防のための評価・測定システム及び運動・教育プログラムの検討 (第2報) 23
分担研究者 武藤芳照
研究協力者 太田美穂, 長谷川亜弓, 朴 眩泰, 侯 文, 黒柳律雄
石川知志, 奥泉宏康, 小松泰喜, 上岡洋晴, 岡田真平
征矢野あや子

- III. 研究成果の刊行に関する一覧表 33

I . 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
総括研究報告書

高齢者の骨・関節疾患の予防・治療法の開発と疼痛緩和対策に関する研究

主任研究者 岩本幸英 九州大学大学院医学研究院整形外科教授

研究要旨

高年者の骨関節疾患の中でも極めて発生頻度の高い変形性関節症や脊椎変性疾患、さらには増加を続ける転倒・骨折に対して、疫学的手法、分子生物学的手法、また運動生理学的手法を用いて、発症および増悪因子の解明を行い、予防対策から薬物治療、さらには細胞や遺伝子レベルでの治療法に至る最先端の治療体系の確立を目指して多角的な研究を行った。

分担研究者氏名・所属施設名及び職名

菊地 臣一

福島県立医科大学医学部整形外科・教授

木村 友厚

富山医科薬科大学医学部整形外科・教授

中村 耕三

東京大学大学院医学研究科・整形外科・教授

廣田 良夫

大阪市立大学医学部・公衆衛生学・教授

武藤 芳照

東京大学大学院教育学研究科・教授

A. 研究目的

高齢社会を迎えて、中高年者の関節疾患の中でも極めて発生頻度の高い変形性関節症および脊椎変性疾患や、増加を続ける転倒・骨折に対して、積極的に予防対策を講じ、より有効な治療法を確立することは、国民の切実なるニーズであり、また医療政策上も極めて重要な責務である。

本研究は、疫学的手法、分子生物学的手法、また運動生理学的手法を用いて、上記疾患の発症および増悪因子の解明を行い、予防対策から薬物治療、さらには細胞や遺伝子レベルでの治療法に至る最先端の治療体系の確立を目指すことを目的とする。そして、広く国民に対して、種々の骨関節疾患に関する知識と理解を深めるよう啓発することを目指して、下記のような個別目標を定めて研究を行った。

1. 中高齢女性に対して、骨密度やライフスタイル等に関する6年間の縦断的疫学調査を行い、経年的

な骨密度の減少に影響を及ぼす諸要因について検討する。（岩本）

2. 手指の変形性関節症（以下手指OA）の病因や発生様式について、疫学調査を基に、局所的要因として利き手との関連を、さらに全身的要因としてgeneralized osteoarthritis（以下GOA）との関連について統計学的に解析する。（岩本）

3. 腰痛関連アウトカム指標である「疼痛、機能、健康感、社会参加、主観的幸福度、健康満足度」の経時的変化と相互関係について、前回の横断的研究の結果をもとに、今回は縦断的な検討により明らかにする。（菊地）

4. 変形性膝関節症の患者調査を実施し、男性患者における症状重篤度の予測因子についてlogistic regression modelにより多変量解析し、目的変数に応じてproportional odds modelという斬新な解析法を駆使して分析する。（廣田）

5. 関節軟骨の修復を目指して試行されている細胞移植という治療法において、軟骨分化増殖因子の遺伝子を間葉系細胞に導入して軟骨分化を促進し、より効率的で有効な手法を確立させる。（木村）

6. メカニカルストレスによってOAが誘導される遺伝子操作マウスのモデルを作製して経時的に観察し、免疫染色やIn situ hybridizationを用いて、分子レベルでのOA発症メカニズムを探る。（中村）

7. 高齢者の転倒回避能力の指標としての「健脚度」の測定・評価ソフトを開発・応用し、健脚度と大腿骨骨密度との関連を探り、転倒予防プログラムの身体的・心理的効果と安全管理の課題を検討する。
(武藤)

B. 研究方法

1. 岩本は、平成6年度から平成12年度まで6年間にわたる骨関節疾患に関する縦断的疫学調査を実施し、追跡調査可能であった一般住民男女193名のうち女性157名を解析対象として、自記式質問票によるライフスタイル調査、身長、体重、骨密度測定(DXA法、橈骨遠位1/3のBMD)、血液検査を行った。重回帰分析を用いて経年的なBMD減少に影響を与える各種要因について、多変量的に解析した。

2. さらに岩本は、平成12年度に行った骨関節疾患に関する横断的疫学調査にて、一般住民(男性156名、女性362名)を対象として、問診およびレントゲン撮影(両手正面、両膝立位正面、腰椎側面)を行った。変形性関節症と変形性脊椎症についてはKellgren-Lawrence分類を用いて評価し、これを基に手指OAとGOAの判定を行い、手指OAとGOAの有病率を算出した。さらに手指OAの左右差と利き手の関係について統計学的に検討を加えた。

3. 菊地は、平成13年および翌14年に腰痛検診を行い、腰痛関連アウトカム指標の経時的变化と相互関連について縦断研究を実施した。アウトカム指標としては、疼痛(visual analog scale, VAS)、機能状態(Roland-Morris Disability Questionnaire日本語版)、総合的健康感(SF-12)、社会参加、主観的幸福度、および健康満足度を採用して、1年間追跡可能であった642名(男性290名、女性352名)について、各指標の経時的变化について縦断研究モデルを作成し、各指標の相互関係について統計学的検討を加えた。

4. 廣田は、3大学病院において1年間に変形性膝関節症の診断を受けた608例のうち40歳以上の男性114人を対象に自記式調査票による調査を行った。症状重篤度の指標として、1)いすから立ち上がる時の膝痛、2)階段昇降時の膝痛、3)階段昇降時の支えや介助の必要性、4)歩行時の支え使用の有無、5)支持なし歩行可能距離を目的変数とし、年齢・身長・体重、既往歴、喫煙・飲酒、正座習慣、運動習慣、職業、学歴を説明変数として統計学的に

解析し、logistic regression modelによりオッズ比(OR)および95%信頼区間(95%CI)を求めた。目的変数が2段階の場合はbinary modelを、3段階の場合はproportional odds modelを用いた。まず単変量解析および年齢のみを考慮した多変量解析を行い、次に有意差を認めた要因または医学的に関連が考えられる要因を同時に考慮した多変量解析を行った。

5. 木村は、家兎の脛骨近位部から骨髓由来間葉系細胞(marrow stromal cell, MSC)を得て継代培養し、これに軟骨分化増殖因子であるCDMP1/GDF5遺伝子をlipofectionにより導入し、コントロールとしてはGFP遺伝子を導入した。このMSCsをTGF- β 3とdexamethasoneを含む軟骨分化培地に置き、細胞増殖度をMTT assayで、軟骨分化の促進をコラーゲンとアグリカン遺伝子発現(RT-PCR)で検討した。

次にin vivo研究を行い、CDMP1遺伝子を導入したMSCsをコラーゲンゲル内に包埋し、成熟家兎の膝蓋大腿関節窩に作成した軟骨欠損部に自家移植した(n=30)。コントロールとしてGFP遺伝子導入MSCs移植群(n=31)と、細胞移植せずに放置したempty control群(n=13)を作成した。経時的に軟骨修復度を観察し、導入遺伝子発現やII型コラーゲン発現を免疫組織学的に検討した。

6. 中村は、OAへの関与が指摘されている遺伝子操作マウスに、関節不安定性によるメカニカルストレスを負荷し、膝OA誘発モデル(C57BL/6, 8週令)を作製した。即ち、膝関節に微小外科手術手技を用いた靭帯切離と半月板切除を種々に組み合わせて、Severeモデル(膝蓋靭帯、ACL、PCLの切離とMM、LMの切除)、moderateモデル(ACL切離とMM切除)、mildモデル(ACLのみ切離)の3タイプを作製し、術後のOA変化を経時的に観察した。さらに免疫染色を用いて、軟骨が産生するcollagenの種類と局在について、正常とOAの関節軟骨を比較検討した。さらに、In situ hybridizationにて細胞質におけるtype X collagenのmRNA発現についても検討した。

7. 武藤は、高齢者の健脚度測定を他の身体所見と組み合わせて実施できるソフトを開発し、農山村高齢者等を対象に、加齢変化、転倒恐怖、自己効力感との関連、施設入所に伴う影響等を検討した。また、東京厚生年金病院「転倒予防教室」に参加した女性高齢者を、10m全力歩行時間で5.7秒以上(S群、95名)と5.7秒未満(F群、83名)の2群に分け、

大腿骨頸部骨密度を比較した。また教室修了者 325 名を対象に、身体面指標（健脚度、バランス能力）、心理面指標（日本語版 POMS、転倒予防自己効力感）について入室時と比較検討した。対照群としては、教室待機者（100 名）と修了者（33 名）の転倒状況を電話聞き取り方式により調査し比較した。さらにメディカルチェックと安全管理について分析し、課題を検討した。

C. 研究結果

1. 6 年間の追跡調査を行った女性 157 名の橈骨 BMD の総減少率は -6.9% (-21.3~8.9%) であり、年間減少率は -1.1%/yr であった。単変量解析の結果、BMD 減少率に関連する要因として「初回 BMD 値」と「年齢」の 2 項目が抽出された。次に重回帰分析を用いて、年齢や体格 (BMI) を補正して分析を行った結果、BMD 減少率は初回 BMD が高ければ高いほど有意に大きく、この関連は他の交絡因子を加えても不変であった。（岩本）

2. 一般住民 518 名のレントゲン有所見率は、手指 OA が計 92 名 (18.9%)、うち左のみは 8 名 (1.6%)、右のみは 42 名 (8.6%)、両側例は 42 名 (8.6%) であった。脊椎または膝に OA を有する者は 232 名 (56.7%) に及んだが、両膝と腰椎の何れにも同時に OA が存在する GOA は 53 名 (13.0%) であった。統計解析の結果、手指 OA の左右分布には年齢の関与は認められず、またその有所見率は男性 16.2%、女性 20.1% で有意な性差は認めなかった。利き手と有所見率との関連では、手指 OA は右利き 19.5%、左利き 12.8% で有意差を認めなかったが、右手指 OA に関しては右利き 18.1%、左利き 7.7% で有意に右利きに多発していた。さらに、GOA の有無に分けて検討したところ、GOA 無し群では右手 OA は右利きに有意に高頻度であったが、GOA 有り群では右利き・左利きで差を認めなかった。（岩本）

3. 腰痛検診の縦断研究モデルに基づいて解析を行った結果、1) 機能状態の変化は、腰痛や下肢痛の変化と有意な関連が認められ、疼痛改善が機能改善に有意な影響を及ぼすことが示された。2) 身体的健康度の変化には、機能状態の変化が大きく影響していた。3) 社会的活動の変化は、身体的健康度の変化と有意な関連が認められたが、他の複数要因の関与が示唆された。また、配偶者の変化とも有意な関連が認められたが、R² 値が 0.004 と小さく、他の要因の関与が大きいと考えられた。5) 主観的幸

福度の変化は、下肢痛の変化と有意な関連が認められたが、R² 値が 0.006 と小さく、他の要因の関与が大きいと考えられた。6) 健康満足度の変化には身体的健康度の変化の影響が大きかった。（菊地）

4. 変形性膝関節症の男性 114 人の初診時症状のうち、1) 「椅子から立ち上がる時の膝痛」は、下肢（膝以外）の外傷歴と正座習慣が正の関連を、飲酒習慣は負の関連を示した。2) 「階段昇降時の膝痛」は、正座習慣が正の関連を示したが、身長が高い方が痛みが軽かった。3) 「階段昇降時の支えや介助の必要性」は、5 年以上前の膝痛や腫れ、高血圧治療歴が有意な正の関連、飲酒習慣は負の関連を示した。4) 「歩行時支えの使用」では喫煙習慣がある者が多かった。5) 「支持なし歩行可能距離」は、高血圧治療歴があると短かく、飲酒習慣があると長かった。なお、統計モデルに含めた変数は、初診時の年齢・身長・体重、40 歳時からの体重増加、過去の膝痛や腫れ、膝の外傷歴、下肢（膝以外）の外傷歴、高血圧・心疾患・糖尿病の治療歴、喫煙・飲酒・正座習慣、職業である。（廣田）

5. 家兎の骨髄由来間葉系細胞 MSCs のほとんどは多分化能を持つ MSCs の性格を有しており、軟骨分化培地に置くと、軟骨分化の一方でアポトーシスによる細胞数の減少が生じた。CDMP1 遺伝子導入により、この細胞数減少を約半分に抑制する効果がみられ、また軟骨分化誘導が軽度増強される効果も認められた。

次に、in vivo での MSCs 自家移植による軟骨修復効果を検討したところ、術後 8 週目までに軟骨欠損部は硝子様軟骨で置換され、修復深層部では軟骨下骨へ改変されつつあり、CDMP1 遺伝子導入の方が GFP 遺伝子導入より良好な修復が認められた。さらに抗 GFP 抗体を用いた免疫染色を行った結果、修復組織の多くの細胞が移植細胞由来であることが確認された。（木村）

6. 遺伝子操作マウスにおける 3 種の膝 OA 誘発モデルのうち、Severe モデルでは軟骨変性から骨棘形成に至る OA の後期変化が、mild モデルは軟骨細胞の増殖・肥大化などの初期変化が観察された。両者の中間的な moderate モデルでは術後 2 週までは初期変化を、それ以降は後期変化が観察され、これら 3 者は、病期の進行速度が異なる OA モデルと考えられた。

免疫染色にて、正常と OA の関節軟骨を比較したと

ころ、type II および type IX collagen の染色性や局在に差はなかったが、type X collagen には差があり、正常軟骨では石灰化軟骨細胞層の最下端にしか存在していなかったが、OA 軟骨では表層に免疫局在が観察された。これら OA 関節軟骨細胞では、In situ hybridization にて細胞質に type X collagen の mRNA の発現がみられ、肥大化軟骨細胞様の変化をきたしていることが明らかとなった。また同時に MMP-13 が局所で強力に誘導されていた。(中村)

7. 健脚度の測定・評価ソフトは実用に供する形で開発され、1) 健脚度低下の様相をビジュアル化できる可能性、2) 高齢者の健脚度と心理的要因が関連性を有している可能性、3) 健脚度と医学的検査所見の推移を対比すると、健康指導に有用であること、4) 施設入所高齢者への介入に伴う健脚度の変化は、後期高齢者では向上例が多いが、前期高齢者では悪化する例が目立ったこと、5) 10 m 歩行速度が速い高齢者では、大腿骨頸部骨密度が有意に高いことが示された。次に、「転倒予防教室」の効果としては、健脚度とバランス能力は有意に改善し、気分や感情の変化は、前期高齢者では有意に気分が安定していたが、後期高齢者ではむしろ「混乱、緊張、抑うつ」が高まる傾向が認められた。転倒発生率は、入室前で33%、修了後で24.2%であった。また、メディカルチェックによって「運動内容の調節」や「専門的リハや治療の優先」を求められた例が30~40%、「運動不可」も18例存在した。(武藤)

D. 考察

1. 中高齢女性に対する縦断的調査によって、「経年的な BMD 減少率は、初回測定時の BMD 値が高いほど大きい」という予想外の結果を得た。これは本邦における初めての報告である。その機序に関しては、高骨量の者には関節症の有病者が多く、機能障害による不活動や肥満、疼痛による薬物使用、炎症性サイトカインの影響などが仮説として論じられているが、日本人のデータはなく、今後の検討課題である。今後、特に骨粗鬆症検診の場面などでは、必ずしも一時点での高骨量データだけでは健康指標として安心材料とは言えず、むしろ "fast loser" である可能性に配慮して、骨量のフォローアップ測定や、骨代謝マーカーによる多面的な評価等を考慮する必要がある。

2. 手指 OA の発症には、一般に手指の酷使や加齢、

性差の影響が指摘されており、利き手側に多発すると言われているが、「左右差なし」とする報告も有って一定の見解には至っていない。本研究での右手指 OA の頻度は、右利きが左利きと比べ有意に高頻度であり、利き手との関連が強く示唆された。しかし全身性要因を背景とした "GOA" の概念で対象者を2群に分けて詳細に検討したところ、「GOA 無し群」では右利きに高頻度であり、局所の力学的ストレスの関与が示唆され、一方の「GOA 有り群」では右利き・左利きでの差は無く、遺伝的素因やホルモン・内分泌環境など全身的要因による対称性の発生様式が示唆された。即ち、局所的要因と全身的要因は、それぞれ独立して手指 OA 発症に関与しているものと考えられた。

3. 腰痛関連モデルにおける指標間の体系的な関連について検討したところ、腰痛や下肢痛が日常活動の制限を生じた結果、総合的健康感に影響が及び、さらに健康満足度にも影響が及ぶと考えられた。また、腰下肢痛の患者立脚アウトカムとしては、VAS、腰痛関連機能障害、身体的健康度、社会的活動、健康満足度が適していると考えられた。

前回の横断研究では、機能障害は腰下肢痛と関連が強く、背景因子と腰下肢痛で全体の46%を説明できたが、今回の縦断的研究の結果では、その約5%を説明できるに過ぎなかった。よって腰下肢痛の変化を評価するには、複数の患者立脚アウトカムを用いて、より多面的に評価する必要があると考えられた。

4. 膝関節の「痛み」や「機能」の重篤度は、飲酒習慣と負の関連を示しており、飲酒と変形性膝関節症との関連には、何らかの交絡の可能性が考えられた。「痛み」の重篤度では、正座習慣が有意な OR 上昇を示したことから、正座による mechanical stress の関与が示唆された。「機能」の重篤度では、高血圧治療歴が有意な OR 上昇を示した。高血圧と膝症状との正の関連は先行研究でも指摘されており、膝関節症による活動低下や肥満の関与が示唆された。重篤度と関連を示したその他の要因は、下肢(膝以外)の外傷歴、低身長、5年以上前の膝痛や腫れ、喫煙習慣であった。今回採用した "proportional odds model" のような新しい統計解析法を駆使することにより、従来にない詳細な情報を得ることができる。

5. 離断性骨軟骨炎や外傷性軟骨損傷は、将来的な変形性関節症の原因となりうる重大な疾患であるた

め、関節軟骨修復に向けた細胞移植は、画期的な治療法としてその確立が待たれている。しかし、現状での自家MSCsの移植利用は、十分な細胞活性と軟骨細胞分化を達成し得ないため、必ずしも良好な軟骨修復が得られていない。今回のCDMP1遺伝子の導入操作は、*in vitro*にて細胞数減少を食い止め、軟骨分化度を軽度亢進させることが明らかとなり、また*in vivo*でも良好な軟骨修復が得られることが検証された。このようにMSCをmodulateして移植に供することにより、より良い関節軟骨修復が達成でき、有効な治療法確立に寄与するものと期待される。

6. 成長軟骨板における軟骨細胞の増殖・分化は厳密に制御されているが、本研究により、OAの軟骨細胞では肥大化・分化のメカニズムに時間的・空間的な異常を生じており、これらの異常が軟骨破壊の進行に関与している可能性が示された。OA初期の現象を細胞レベルや分子レベルで制御しているメカニズムは、今後OAの治療のtargetとなる可能性があり、特に本研究のように、遺伝子操作マウスのOAモデルを応用することによって、OA発症における遺伝子の役割が明らかにされ、発症メカニズムの解明と、治療法の開発に役立つことが期待される。

7. 健脚度測定・評価のソフトを応用して、高齢者の個人・集団について縦断的に測定・評価を行うことにより、転倒・骨折予防に役立つ基礎資料が得られることが示された。また歩行速度と大腿骨頸部骨密度との関連が示され、予防プログラムの実施に当たっては、この両者もしくは歩行速度を指標として用いることが有用であると考えられた。「転倒予防教室」によって身体機能の向上は各年代で認められたが、心理面については、前期高齢者は改善されたが、後期高齢者は必ずしもその傾向は見出せず、年代に応じた配慮が必要と考えられた。

また、入室時のメディカルチェックで「運動不可」と判定される事例や、多数の薬剤を服用している事例、運動中の転倒事例も存在することから、メディカルチェックと安全管理体制の重要性が示された。

E. 結論

1. 中高齢女性の「経年的な橈骨BMDの減少率は、初回測定時のBMD値が高いほど大きい」という結果を得た。これは本邦では初の報告であり、機序に

関しては今後検討を要するが、高骨量についての評価を再検討するがある。

2. 右手指OAは、機械的ストレスの多い利き手側に高頻度に認められたが、全身性要因を背景とした"GOA"の有る群に限定すると利き手による差が無くなり、対称性の発生様式が示唆された。即ち、局所的要因と全身的要因は、それぞれ独立して手指OA発症に関与している可能性がある。

3. 腰痛関連指標間の関連について検討したところ、腰痛や下肢痛が日常活動の制限を生じた結果、総合的健康感に影響が及び、さらに健康満足度にも影響が及ぶと考えられた。但し、縦断調査での疼痛の変化は機能障害の変化の約5%を説明できるに過ぎず、より多面的に評価する必要がある。

4. 膝関節痛や機能の重篤度は、飲酒や喫煙、正座習慣、高血圧治療歴、下肢外傷歴、低身長、過去の膝痛と複雑に関連しており、今回採用した"proportional odds model"のような新しい統計解析法を駆使することにより、従来にはない詳細な情報を得ることができる。

5. 家兎の骨髄由来間葉系細胞へのCDMP1遺伝子の導入は、*in vitro*にて細胞数減少を抑制し、軟骨分化度を亢進させ、また*in vivo*での細胞移植において良好な軟骨修復が得られることが検証された。これは、軟骨損傷に対する有効な治療法確立への手がかりとなる知見である。

6. 遺伝子操作マウスのOAモデルを作製・応用することによって、OA発症における軟骨細胞の肥大化・分化のメカニズムには時間的・空間的な異常を生じていることが示された。これは、OA発症のメカニズム解明にとって極めて有用な実験モデルと言える。

7. 健脚度測定・評価ソフトを用いて、高齢者を縦断的に測定・評価を行うことにより、転倒・骨折予防に役立つ貴重な情報が得られた。また「転倒予防教室」によって身体機能向上は認められたが、年代に応じた心理面の配慮や、運営上のメディカルチェックと安全管理体制が重要である。

Ⅱ. 分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
分担研究報告書

手指の変形性関節症と generalized osteoarthritis の関連についての疫学的検討

主任研究者 岩本幸英 九州大学大学院医学研究院整形外科教授
研究協力者 三浦裕正、高杉紳一郎、河野 勤

研究要旨

骨関節疾患に関する総合的疫学調査より得られたデータを基に、手指の変形性関節症と generalized osteoarthritis の関連について解明することを目的とし、特に利き手の手指変形性関節症の発生頻度に及ぼす影響に着目し統計学的検討を行った。手指変形性関節症は全体としては右手に多く発生しており、右手における発生頻度は右利きと左利きでは有意に異なっていた。しかしながら対象群を generalized osteoarthritis の有無によって分け、右手における発生頻度を比較すると、generalized osteoarthritis 無しと定義された群では前述同様に右利きと左利きでは有意に異なっていたが、generalized osteoarthritis 有りと定義された群では右利きと左利きで右手における手指 OA の発生頻度に有意差を認めなかった。本研究の結果は手指の変形性関節症の発生においては、力学的要因と generalized osteoarthritis で定義されるような全身的な素因といった異なる要因がそれぞれ独立して関与している可能性を示唆しているものと思われた。

A. 研究目的

手指の変形性関節症（以下手指 OA）は日常の診療で頻繁に遭遇する疾患であるが、その病因や発生様式については未だ十分に解明されていない。一般にはいわゆる manual labor に多く、利き手側に多く発生すると言われているが、両側例や家族内発生例も多いことから、全身的要因の関与に着目し generalized osteoarthritis（以下 GOA）の範疇で語られることもしばしばである。

そこで本研究の目的は手指 OA について疫学調査を基に検討し、利き手の影響及び GOA との関連について統計学的に考察することである。

B. 研究方法

1) 対象

平成 12 年度に福岡県新吉富村に於いて、がん・成人病予防検診の受検者 518 名を対象とした骨関節疾患に関する総合的疫学調査を行った。内訳は男性 156 名女性 362 名、平均年齢はそれぞれ 63.8 歳と 60.7 歳であった。

2) 検討項目

それぞれの対象について、年齢、性別と共に利き

手の左右について問診を取り、両手正面像、両膝立位正面像、腰椎側面像のレントゲン撮影を行った。2 名の整形外科医が読影を行い、変形性関節症及び変形性脊椎症の有無について Kellgren-Lawrence 分類及び Lawrence 分類を用いて評価し、それぞれ grade2 以上を「所見有り」と判定した。これらを基に手指 OA と GOA に関して以下の如く定義した。

手指 OA：第 1 指指節間関節及び第 2～5 指遠位指節間関節のうち、いずれかにおいて「所見有り」と判定されたものを「手指 OA 有り」とし、各対象の左右手それぞれについてこれを定義した。

GOA：両側膝関節と腰椎いずれにも「所見有り」と判定されたものを「GOA 有り」と定義した。

3) 統計解析

まず今回の対象内における手指 OA 及び GOA の発生頻度として X 線学的有所見率を算出した。次に手指 OA 発生頻度の左右差を検討するため、右手における手指 OA の発生頻度について年齢、性別、利き手との関連を単変量解析にて解析した。更には右手における手指 OA 発生頻度を基に、手指 OA と GOA、利き手の影響についてカイ二乗検定を用いて検討した。

C. 研究結果

・手指 OA 及び GOA の発生頻度

左右いずれかに手指 OA 有りと判定されたものは 92 名であり全体の 18.9% にみられた。そのうち左のみにみられたものは 8 名で 1.6%、右のみにみられたものは 42 名で 8.6%、両側例は 42 名で 8.6% であった。一方脊椎もしくは膝に OA を有するものは 232 名で全体の 56.7% にも及んだが、GOA と判定されたものは内 53 名で全体の 13.0% であった。

・手指 OA の右手発生頻度

～年齢、性別、利き手の関連～

まず年齢の関与を検討するため両手指 OA 有り群と右手指のみ OA 有り群、左手指のみ OA 有り群及び手指 OA 無し群について年齢を比較した。手指 OA 無し群では有意に低い年齢を呈していたが、OA を有するもの間ではその左右の分布による年齢の違いは無かった（表 1）。次に性別による右手指 OA 発生頻度を比較した。手指 OA の発生頻度は男性 23 名 16.2%、女性 69 名 20.1% で差を認めず、右手指 OA の発生頻度も男性 22 名 15.5%、女性 62 名 18.0% と有意差を認めなかった（表 2）。次に利き手による右手指 OA 発生頻度を比較した。OA の発生頻度は右利き 87 名 19.5%、左利き 5 名 12.8% で差を認めなかったが、右手指 OA の発生頻度に関しては右利き 81 名 18.1%、左利き 3 名 7.7% と右利きにおいて有意に高かった（表 3）。

表 1 手指 OA 発生部位と年齢の関連

	年齢	SD
両手指 OA 有り	68.7	7.6
右手指のみ OA 有り	69.6	6.9
左手指のみ OA 有り	70.1	9.5
手指 OA 無し	60.8	10.1

表 2 右手指 OA 発生頻度と性別の関連

	男	女
手指 OA 発生頻度	16.2%	20.1%
右手指 OA 発生頻度	15.5%	18.0%

表 3 右手指 OA 発生頻度と利き手の関連

	右利き	左利き
手指 OA 発生頻度	19.5%	12.8%
右手指 OA 発生頻度	18.1%	7.7%

・手指 OA の右手発生頻度

～利き手と GOA の関連～

そこで利き手の関連を更に詳細に検討するため GOA 有り群と GOA 無し群に分けて、右手指 OA の発生頻度と利き手の関連について検討した。GOA 無し群では、右手 OA の発生頻度は右利きにおいて有意に高かった（表 4）。しかしながら GOA 有り群では、OA の発生頻度は右利き左利きで差を認めず、更には右手 OA の発生頻度に関しても右利き左利きで差を認め無かった（表 5）。

表 4 右手指 OA 発生頻度と利き手の関連
GOA 無し群

	右利き	左利き
手指 OA 発生頻度	18.0%	9.7%
右手指 OA 発生頻度	16.4%	3.2%

表 5 右手指 OA 発生頻度と利き手の関連
GOA 有り群

	右利き	左利き
手指 OA 発生頻度	39.6%	40.0%
右手指 OA 発生頻度	37.5%	40.0%

D. 考察

今回我々は手指 OA について検討するにあたり、特に右手の発生頻度に着目して解析を行った。一般に OA の発生には年齢、性差が関与すると言われていたが、右手指 OA 発生頻度については年齢性別の影響を認めなかった。一方、利き手の違いで右手指 OA 発生頻度を比較したとき右利きでは左利きと比べ右手指 OA 発生頻度が有意に高く、手指 OA の発生と利き手の関連が強く示唆された。

しかしながら対象を GOA の概念で 2 群に分け、同様に利き手と右手指 OA 発生頻度の関連を検討してみると、GOA 無し群では先程と同様に右利きに有意に高い発生率を呈し、利き手の影響を強く認めたが、GOA 有り群では右利き左利きで右手指 OA 発生頻度に差は無く、利き手の関連を認めなかった。

手指 OA、特に X 線学的 OA は日常よく遭遇するが、一般に manual labor に多くみられ加齢による発生頻度の増加や女性に多いことが知られている。また左右の発生頻度の差違に関しては一般には利き手側に多いと言われていたが、左右差を認めなかったとの報告も多数あり、一定の見解に至っていない。このような利き手や職業との関連性より、本疾患の

発生には力学的要因の関与が示唆されているが、近年では遺伝的素因やホルモン・性差の関与などと共にGOAの概念の範疇で語られることが多い。今回の我々の結果ではこれら力学的要因とGOAに代表される全身的要因の、それぞれ独立した関与が示唆されているものと思われる。

GOAとは1959年にKellgrenとMooreによって提唱された概念であり、多関節に及ぶ左右差を認めない発生様式のOAの存在を特徴とし、遺伝的素因を始めとした全身的要因の関与が指摘されている。手指OAの発生はGOAと強く関連し、その存在自体がGOAを示唆するとの意見もみられるが、今回の我々の結果はGOAと関連する手指OAの一つの傾向として、左右差を認めない対称性の発生様式が考えられた。

E. 結論

1) 疫学調査を基に手指の変形性関節症について、その発生頻度とgeneralized osteoarthritisの関連を検討した。

2) 右手指変形性関節症の発生頻度は、年齢性別の関連は認めなかったが、利き手の影響を強く受けていた。

3) 右手指変形性関節症の発生頻度に対する利き手の影響を更に詳細に検討すると、generalized osteoarthritis無しと定義された群では有意に認めしたが、generalized osteoarthritis無しと定義された群においては、認めなかった。

4) 手指変形性関節症の発生には、力学的要因と全身的要因のそれぞれ独立した関与が示唆された。

5) generalized osteoarthritisとの関連が考えられる手指変形性関節症の一つの傾向として利き手の影響を受けず左右差を認めない発生様式が示唆された。

F. 研究発表

第104回西日本整形・災害外科学会(2002.11.16-17 熊本)手指の変形性関節症とgeneralized osteoarthritisの関連についての疫学的検討:河野 勤、三浦裕正、高杉紳一郎、真鍋尚志、増本賢治、河野一朗、細川哲、岩本幸英

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
分担研究報告書

中高齢女性の骨密度減少に関連する因子

主任研究者 岩本幸英 九州大学大学院医学研究院整形外科教授
研究協力者 高杉紳一郎、三浦裕正、真鋼尚至

研究要旨

「骨折」は、わが国の高齢者の寝たきり要因の11.7%を占め、脳血管疾患や痴呆に次ぐ大きな問題である。従って、高齢者のQOLを維持し、要介護者の増加を抑えるためには、骨折発生の危険因子である「骨粗鬆症」の予防介入や治療戦略を講ずることが重要となる。本研究では、地域在住の中高齢女性157名を対象に、骨関節疾患に関して6年間にわたる縦断的疫学調査を実施し、経年的な骨密度（BMD）減少に影響を与える要因について多変量的に解析した。その結果「BMD減少率は、初回BMD値が高いほど大きい」という予想外の結果を得た。機序に関しては諸説があり、今後の検討課題であるが、「高い骨量」に対する評価を再考し、“fast loser”である可能性に配慮して、骨量のフォローアップ測定や骨代謝マーカー等による多面的な評価を考慮する必要がある。

A. 研究目的

わが国の高齢者にとって、「骨折」は寝たきり要因の11.7%を占めており（平成10年国民生活基礎調査）、「脳血管疾患」や「痴呆」に次いで多く、医療政策上も極めて大きな問題である。増加を続ける高齢者のQOLを維持して、要介護者の増加を極力抑えるためには、骨折発生の背景にある「骨粗鬆症」への対応が重要である。特に女性の場合は、大腿骨頸部骨折の発生頻度が男性の約3倍であることから、適切なる予防介入や治療戦略を講ずることが必要となる。

本研究では、地域在住の中高齢女性に対して骨関節疾患に関する住民検診を行い、骨密度やライフスタイル等に関して6年間にわたる追跡調査を行い、経年的な骨密度減少に影響を与える要因について、多変量解析を駆使して分析した。

その結果、「経年的な骨密度の減少率は、初回測定時の骨密度が高ければ高いほど大きい」という予想外の結果を得たので、文献的考察を加えて報告する。

B. 研究方法

福岡県東部に位置する新吉富村（人口4240名）において、学術調査の事前説明会を行い、趣旨に賛同して自発的に検診に参加を希望した一般住民を対

象として、1994年10月と2000年10月の2回にわたって、骨粗鬆症を含む骨関節疾患に関する総合的疫学調査を行った（表1）。このうち、2回とも受診して追跡調査可能であった住民は、男女合計193名（全受診者の37.3%）であった（表2）。なお、男性の追跡可能者数が36名と少なかったため、女性のみ157名に絞って、以下の解析対象とした。

表1 住民検診受診者

	初回調査	最終調査
時期	1994年10月	2000年10月
受診者	571名	518名
年齢	29~83歳 (平均57.8歳)	24~87歳 (平均60.7歳)

表2 追跡調査対象者（総数：193名）

	女性	男性
対象者	157名	36名
年齢	40~81歳 (平均58.1歳)	50~77歳 (平均62.8歳)

住民検診における検査・測定項目のうち、初回調査時と最終調査時に同一条件で収集した項目を表3に、自記式質問票の設問項目を表4に示す。骨密度(BMD)は、DXA法(アロカ社製、DCS-600)により、非利き手側の橈骨遠位1/3にて測定した。変形性膝関節症および変形性脊椎症に関するX線所見は、いずれもKellgren & Lawrence分類を用いて、2名の整形外科医が読影し、Grade 2以上を「所見あり」として数値化した。なお、検診の結果データは、整形外科医と保健師が分担して、全ての受診者にフィードバックして個別に生活指導を行った。

表3 検査・測定項目

1. ライフスタイル(自記式質問票)
2. 身体計測(身長、体重、体脂肪率)
3. 理学的所見(整形外科医診察)
4. 骨密度(DXA法、橈骨遠位1/3)
5. X線(両膝正面、腰椎側面)
6. 血液、尿検査

表4 自記式質問票の設問項目

1. 食生活
 - 小魚、魚介類、海藻類、肉類、卵、緑黄色野菜、豆腐・納豆、牛乳、乳製品、油料理、炭酸飲料、インスタント加工食品、コーヒー・紅茶
2. 身体活動
 - 運動習慣(週3回以上)
 - 職業歴(力仕事の有無)
3. 嗜好品
 - 喫煙、飲酒
4. 妊娠・出産歴、月経歴(初経、閉経)

C. 研究結果

1. BMDの経年変化

6年間のBMD変化率(%)は、最終調査時のBMD(絶対値)を、初回調査時のBMD(絶対値)で除して算出した(表5)。BMDの総減少率は-6.9%(-21.3~8.9%)、年間減少率は-1.1%/yrであった。

表5 橈骨BMDの変化率

	初回調査	最終調査
平均BMD	0.551±0.089	0.513±0.086(g/cm ²)
減少値		-0.038 (g/cm ²)
総減少率		-6.9 (%)
年間減少率		-1.1 (% / yr)

2. 単変量解析

各種調査項目の中から、経年的なBMD減少に関連する要因を抽出するべく、Student t検定またはカイ二乗検定を変数に応じて選択し、危険率は5%未満として有意差検定を行った。その結果、「初回BMD」と「年齢」の2項目のみが、t検定にてBMD減少率と有意な関連を示した(p<0.05)。

3. 多変量解析

次に、多変量解析として重回帰分析を用いて、年齢や体格(BMI)を補正して分析を行った結果、BMD減少率は、下記の回帰式によって導かれた。即ち、初回BMDが高いほど、その後のBMD減少率が有意に大きく、この関連は他の交絡因子を加えても不変であった。

重回帰式: $y = -22.1 X_1 - 0.21 X_2 + 0.30 X_3 + 10.4$

y: BMD変化率

X1: 初回BMD (g/cm²) (p=0.002)

X2: 初回年齢 (p=0.006)

X3: 初回BMI (p=0.080)

D. 考察

地域在住の中高齢女性157名を対象に、骨粗鬆症を含む骨関節疾患に関して6年間にわたる縦断的疫学調査を実施し、経年的な骨密度減少に影響を与える要因について解析した。多変量解析の結果、「経年的なBMD減少率は、初回測定時のBMDが高ければ高いほど大きい」という予想外の結果を得た。同様の報告は海外で数件見られるが、国内では初めての報告である。その機序に関しては下記のような可能性が論じられているが、いずれも仮説の域を出ない。

1. 不動

高骨量者には関節症有病者が多く、運動機能障害のために不活動となり、不動による骨量減少が生じるとする説

2. 薬物

高骨量者には関節症有病者が多く、疼痛に対して

消炎鎮痛剤やステロイド剤などの薬物使用頻度が高まり、薬剤性の骨量減少が生じるとする説

3. 骨代謝カップリング

高骨量者は骨代謝回転が高まっており、青年期には骨形成が十分であるが、加齢とともにアンカップリングが生じ、特に閉経期以後に骨吸収が亢進することによって、骨量減少が生じるとする説

4. サイトカイン

高骨量者では種々の炎症性サイトカインの産生が高まっており、これらが軟骨代謝を障害し関節症を惹起するとともに、骨吸収を亢進させるために骨量減少が生じるとする説。サイトカインの候補としては、IGF-1, IGF-2, Insulin, IL-6, IL-1, TGF- β などが論じられている。

5. 肥満

肥満者には高骨量者が多いことは良く知られているが、同時に肥満女性では血中エストロゲン濃度が高く、また前述の炎症性サイトカインも高いため、閉経期以降の急激な女性ホルモン減少によって、骨吸収が進行して、骨量減少が生じるとする説。

代表的な先行研究について、以下に列挙する。

Sowersら(1991)は、716名の白人女性についてMD法を用いて手指の骨量を評価し、20~23年間の追跡調査を行った。その結果「手指に関節症を有する者は、青壮年期には高い骨量を有するが、経年的な骨量減少も大きい」ことを見出しており、「OA患者は骨量減少のリスクが低いと安心するべきではない」と論じている。

Burgerら(1996)は、男性714名と女性1009名の大腿骨BMDをDXA法で平均2.2年間追跡したところ、「変形性関節症を有する者(OA患者)は男女ともにBMDが有意に高く、同時に加齢に伴うBMD減少が大きい」ことを示した上、「OA罹患関節の数が多ければ多いほど、BMD減少率も大きい」とも述べている。さらにこの関連は「日常生活能力とは独立した現象である」ことを示して、「関節障害によって下肢機能が低下して不動による骨粗鬆化が進行したわけではない」と論じている。

Davisら(1992)は、495名の日系米人女性(45-81歳)の踵骨および橈骨の骨量をSPA法にて5年間追跡した結果、前二者と同様に「高骨量者ほど経年的な骨量減少率が大きい」ことを示した。さらに彼らは「BMDの減少パターンには極めて個人差が大きいいため、理論的には"標準偏差"が経年的に

増大するはずであるが、骨量の実測データでは"標準偏差"が増大せず、むしろ加齢とともに"標準偏差"に減少傾向さえ認められる点」に着目して、このような収束傾向を"Gradual convergence"と表現している。即ち、高骨量者は骨量を減じ、低骨量者は骨量を維持するような特性が無ければ、収束傾向は生じ得ないことを指摘している。

さて、現在の一般的な骨粗鬆症検診では、「高い骨量」を良好な健康指標として評価して、生活指導がなされている。しかし、我々の研究結果は「初回BMDが高いほど、経年的BMD減少率は大きい」という国内で初めての報告であり、必ずしも一時点での高骨量データだけでは安心材料とは言いきれず、むしろ"fast bone loser"である可能性が高いことを示している。従って今後は、「高い骨量」に対する評価を再考し、骨量のフォローアップ測定や、骨代謝マーカーによる多面的な評価等を考慮する必要がある。

E. 結論

1. 一般中高齢女性157名に対して縦断的疫学調査を行い、橈骨BMDの加齢変化に影響を及ぼす因子について解析した。
2. 初回BMD値が高いほど、その後のBMD減少率が有意に大きく、交絡因子を加えても不変であった。
3. 機序に関しては諸説があり今後の検討課題であるが、「高い骨量」の評価については、"fast loser"である可能性を考慮した経過観察が必要であろう。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表(学会発表)

- 1) 第76回日本整形外科学会(2004.5.22-25金沢) 中高齢女性の骨密度減少に関する縦断研究:真鍋尚至、高杉紳一郎、三浦裕正、岩本幸英
- 2) 第105回西日本整形・災害外科学会(2004.6.13-14福岡) 閉経後女性の骨密度減少に影響を与える因子:真鍋尚至、三浦裕正、高杉紳一郎、岩本幸英

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
分担研究報告書

腰痛関連アウトカム指標の経時的変化と相互関連
－腰痛関連モデルを用いた縦断研究－

分担研究者 菊地臣一 福島県立医科大学医学部整形外科学教室教授

研究要旨

本研究の目的は、疼痛、機能状態、総合的健康感、社会参加、主観的幸福度、および健康満足度の各々の変化の相互関係を縦断的な検討により明らかにすることである。平成13年に第1回腰痛検診、14年に第2回腰痛検診を実施した。調査方法は面接によるアンケート調査である。本研究の対象は、第1回腰痛検診を受診した816名のうち、第2回検診で追跡調査が可能であった642名である。follow-up率は79%であった。本研究の結果から、腰下肢痛の患者立脚アウトカムとしては、VAS、腰痛関連機能障害、身体的健康度、社会的活動、健康満足度が適していると考えられた。

A. 研究目的

疫学調査による統計学的検討により腰痛関連モデルの評価を行うことを目的として、平成13年に第1回腰痛検診を実施した。この横断的研究の結果は、昨年の本研究会で報告した。本研究により、各指標は腰痛関連モデルに則した有意な関連があることが明らかになった。すなわち、腰痛や下肢痛が日常活動の制限を生じた結果、総合的健康感に影響が及び、さらに社会参加、幸福度、および健康満足度にも影響が及ぶといえる。今回は、第1回腰痛検診で検討した腰痛関連モデルをもとに、各アウトカム指標の1年間の経時的変化についての関連を仮定した縦断研究モデルを作成した。本研究の目的は、疼痛、機能状態、総合的健康感、社会参加、主観的幸福度、および健康満足度の各々の変化の相互関係を縦断的な検討により明らかにすることである。これにより、疼痛や機能障害の改善自体が、患者の健康感、社会参加、幸福度、および健康満足度の変化に及ぼす影響について明らかにすることができる。

B. 研究方法

福島県南会津郡舘岩村で毎年行われる総合検診時に腰痛検診を行った。平成13年に第1回腰痛検診、14年に第2回腰痛検診を実施した。調査方法は面接によるアンケート調査である。本研究の対象は、第1回腰痛検診を受診した816名のうち、第2回

検診で追跡調査が可能であった642名（男性290名、女性352名、最多年代層70代）である。follow-up率は79%であった。調査内容は、両年度とも全く同じ項目についてアンケートを行った。個人の背景因子として、年齢、性、配偶者の有無、および同居子の有無について調査し、それぞれの項目はパス解析を適用できるようにコード化した。疼痛のアウトカム指標として、腰痛や下肢痛の程度をvisual analog scaleで評価した。但し下肢痛は、臀部や大腿から下腿にかけての疼痛、すなわち神経性の疼痛と定義した。機能状態の評価には、腰痛や下肢痛による活動制限の指標として用いられているRoland-Morris Disability Questionnaire日本語版を使用した。総合的健康感の評価にはSF-12を用いた。各指標の1年間の変化値を算出し、縦断研究モデルに基づいてパス解析を行った。

（倫理面への配慮）

検診前に、あらかじめ、腰痛検診を行うことを住民へ通知し、同意を得た。検診不希望者には行わなかった。

C. 研究結果

機能状態の変化は、腰痛や下肢痛の程度の変化、性と有意な関連が認められた。すなわち、疼痛の改善は機能状態の改善に有意な影響を及ぼしている

いえる。しかし、機能状態の変化は各々の指標の変化により約5%を説明できるに過ぎなかった。身体的健康度の変化は、腰痛や下肢痛の変化よりも、むしろ機能状態の変化と強い関連が認められた。すなわち、身体的健康度の変化は機能状態の変化が大きく影響する。社会的活動の変化は、身体的健康度の変化と有意な関連が認められた。しかしこれらの指標の変化により社会的活動の変化の約1.6%を説明できるに過ぎず、社会的活動の変化にはその他の要因が関与していると考えられる。社会的統合の変化は、配偶者の変化と有意な関連が認められたが、R²値は0.004と小さく、その他の要因の関与が大きいといえる。主観的幸福度の変化は、下肢痛の変化と有意な関連が認められたが、R²値が0.006と小さく、その他の要因の関与が大きいといえる。健康満足度の変化は、身体的健康度の変化と強い関連が認められた。すなわち、健康満足度の変化には身体的健康度の変化の影響が大きい。以上の結果から、腰痛関連モデルにおける指標間体系的な関連について検討した。各指標の変化は、社会的統合の変化と主観的幸福度以外については、モデルに一致した相互関連があることが明らかになった。すなわち、腰痛や下肢痛が日常活動の制限を生じた結果、総合的健康感に影響が及び、さらに健康満足度にも影響が及ぶといえる。

D. 考察

本研究の結果から、腰下肢痛の患者立脚アウトカムとしては、VAS、腰痛関連機能障害、身体的健康度、社会的活動、健康満足度が適していると考えられる。腰下肢痛の変化と腰痛関連機能障害の変化の関連を横断研究の結果と比較してみると、横断研究においては、腰痛関連機能障害の程度は腰下肢痛の程度と関連が強く、背景因子と腰下肢痛の程度で腰痛関連機能障害の46%を説明できる。腰痛関連機能障害を評価するRoland-Morris質問票は腰痛の程度と高い相関性を有し、腰痛や下肢痛の変化は腰痛関連機能障害の変化に反映されることが報告されている。しかし今回の縦断的研究の結果、腰痛関連機能障害の変化は背景因子と腰下肢痛の程度の変

化により、約5%を説明できるに過ぎなかった。すなわち、腰下肢痛の変化を評価するには、複数の患者立脚アウトカムを用いて、より多面的に評価する必要があると考えられる。

E. 結論

腰痛や下肢痛が日常活動の制限を生じた結果、総合的健康感に影響が及び、さらに健康満足度にも影響が及ぶ。腰下肢痛の患者立脚アウトカムとしては、VAS、腰痛関連機能障害、身体的健康度、社会的活動、健康満足度が適している

F. 健康危険情報

腰痛や下肢痛は日常活動の制限し、総合的健康感に影響を及ぼし、さらに健康満足度にも影響を与える。

G. 研究発表

1. 論文発表

竹谷内克彰、菊地臣一、紺野慎一、ほか：腰下肢痛と腰痛関連機能、総合的健康観、および社会参加の関連—腰痛関連モデルを用いた疫学的検討— 臨床整形外科 37 (12) : 1409-1417, 2002

2. 学会発表

1) Takeyachi Y, Konno S, Otani K, et al: Correlation between low back pain and functional status, QOL, and social background; An epidemiologic study 29th Annual Meeting, International Society for the Study of the Lumbar Spine. 2002, 5 Cleveland, USA

2) 竹谷内克彰、菊地臣一、紺野慎一、ほか：腰痛関連機能障害と社会的背景に関する疫学的検討 75回日本整形外科学会学術集会 2002. 5 岡山

3) 竹谷内克彰、菊地臣一、紺野慎一、ほか：腰下肢痛と腰痛関連機能障害、QOL、および社会的背景—疫学的検討— 第31回日本脊椎脊髄病学会 2002, 6 宮崎

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
分担研究報告書

変性関節軟骨の修復へ向けた細胞遺伝子治療

分担研究者 木村友厚 富山医科薬科大学医学部整形外科教授
研究協力者 川口善治、下条竜一、杉森一仁、片山理恵

研究要旨

退行性加齢変化である関節軟骨変性や脊椎椎間板変性の疾患感受性遺伝子の解析に引き続いて、これらの軟骨障害の修復を目指し、細胞治療によって良好な修復を得るのに必要な条件を検討した。家兎の骨髄由来の間葉系細胞を採取して使用し、細胞増殖因子の一つである CDMP1 の *in vitro* での効果を調べるとともに、これを間葉系細胞に遺伝子導入し、家兎膝関節の軟骨全層欠損部に自家移植することによって、関節軟骨修復が改善されるかを検討した。その結果、CDMP1 遺伝子導入は骨髄由来間葉系細胞からの軟骨分化を軽度促進するのみであったが、このような細胞移植により、家兎膝関節の *in vivo* での軟骨修復は良好なものとなり、硝子軟骨組織の再生とともに、関節表層の近くまで良好なマトリックス構築の再生が認められた。骨髄由来間葉系細胞移植による良好な軟骨再生のためには、細胞をあらかじめ軟骨分化の lineage に向かわせておくことが有用と考えられた。

A. 研究目的

変形性関節症をはじめとして、関節軟骨が破壊を受ける病態は多岐にわたる。しかし一たび変性や損傷を受けた関節軟骨が、そのままでは修復や再生能力に極めて乏しいことは、すでによく知られている。このような関節軟骨の修復を目指して種々の治療法が試みられる中で、骨軟骨組織移植に加えて細胞治療、すなわち何らかの細胞を移植することによる修復法が数多く検討されている。われわれは骨髄由来間葉系細胞を用い、これを軟骨分化へ方向付けて移植に用いることにより、より良い軟骨修復を得ることを目指して以下の研究を行った。

B. 研究方法

1) 家兎の脛骨近位部より 2ml の骨髄血を採取して培養し、骨髄由来間葉系細胞 (marrow-derived mesenchymal cell または marrow stromal cell, MSC) に富む付着細胞を得た。約 10 日後に subconfluent となった時点で継代し、その後ほぼ 7 日ごとに継代した。この MSCs に軟骨分化増殖因子の一つである CDMP1/GDF5 遺伝子を lipofection により導入し、コントロールとして GFP 遺伝子を同様に導入した。遺伝子導入後に MSCs を TGF- β 3(10 ng/ml) と

dexamethasone(0.1 mM) を含む軟骨分化培地に置き、細胞増殖度を MTT assay で、また軟骨分化促進の程度をコラーゲンとアグリカン遺伝子発現 (real-time RT-PCR) で検討した。

2) 上記と同様の方法で CDMP1 遺伝子を導入した MSCs をコラーゲンゲル内に包埋し、直ちに成熟家兎の膝蓋大腿関節窩に作成した径 4mm の軟骨全層欠損部に自家移植した (n=30)。同時にコントロールとして GFP 遺伝子導入 MSCs 移植群 (n=31)、細胞移植せずに放置した empty control 群 (n=13) も作成した。経時的にこれらの修復度を肉眼的および組織学的に観察するとともに、導入遺伝子発現や II 型コラーゲン発現を免疫組織学的に検討した。

C. 研究結果

家兎骨髄より MSCs を付着細胞として得た。この細胞のほとんどは CD44⁺、CD14⁻であり且つ低いレベルではあるがテロメラーゼ活性を有していた。また既に報告されている各分化条件で培養することにより、軟骨細胞・骨芽細胞・脂肪細胞への分化を認めたため、この細胞が多分化能を持つ MSCs としての性格を有していることを確認した。この MSCs を軟骨分化培地に置くと、軟骨分化の一方でアポトー

シスによると思われる細胞数の減少が生じる。CDMP1 遺伝子導入はその導入効率が20%程度であったが、この細胞減少を約半分程度にとどめる効果があった。一方、軟骨分化誘導条件下では培養2日から5日目にかけて、II型コラーゲンとアグリカン遺伝子発現が認められたが、CDMP1 遺伝子導入により軽度であるが発現の増強効果が認められた。

次にこの CDMP1-transfected MSCs 移植による in vivo での軟骨修復効果を検討した。家兎における CDMP1 または GFP 遺伝子導入 MSCs の自家移植により、術後8週目までの観察で明らかに良好な軟骨修復が観察された。またその修復の程度は CDMP1 遺伝子導入 MSCs でより良好であった。軟骨全層欠損部の多くは硝子様軟骨で置換されており、また修復深層部では軟骨下骨へ改変されつつあった。周囲軟骨と再生軟骨の統合性は中等度に良好であった。修復再生組織中の細胞が移植細胞由来かどうかを確認するために、抗 GFP 抗体を用いた免疫染色を行った。その結果、修復組織の表層から中層部の約20%の細胞が GFP を発現しており、約20%の遺伝子導入効率と考え合わせると、修復組織の多くの細胞が移植細胞由来であると考えられた。また再生した硝子様軟骨組織は、表層の近くまで関節軟骨構造を再構築しており、細胞外基質は抗 II 型コラーゲン抗体による強い染色性を示していた。

D. 考察

関節軟骨修復に向けた細胞移植治療が既に詳細に検討されてきている。ことに離断性骨軟骨炎や外傷性軟骨損傷に対する自家培養軟骨移植術が既に数多く行われ、一方では自家骨髄由来の MSCs を変形性関節症膝に移植した報告もある。特に自家の MSCs の利用は、その多分化能や大きな増殖能などといった大きな利点を有している。にもかかわらず株化した非自己の MSC ではなく、自家の MSC を修復を用いた場合には、動物実験レベルにおいても必ずしも常に良好な軟骨修復が得られるわけではない。その理由の一つには移植した MSCs が in vivo の軟骨欠損部の細胞環境において、十分な細胞活性と軟骨細胞への分化を達成し得ないことが考えられる。これ

を改善するためには移植細胞を軟骨分化へ予め方向付けてやること、あるいは分化度を促進してやることなどが有用と考えられる。今回の CDMP1 遺伝子の導入は、MSCs の細胞数の減少を食い止めるとともに、軽度ではあるが軟骨分化度を亢進させ、このことが実際の in vivo の軟骨修復には有利に働いたと考えられる。このように MSC を modulate してそれを移植に用いることにより、より良い関節軟骨修復が達成できることが期待される。

E. 結論

関節軟骨修復を目的とした細胞治療において、分化を制御した骨髄由来間葉系細胞の移植が有用であると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

・ Kawaguchi Y., Kanamori M., Ishihara H., Ohmori K., Matsui H., Kimura T.: The association of lumbar disc disease with vitamin-D receptor gene polymorphism. *J. Bone Joint Surg.*, 84A: 2022-2028, 2002.

・ Katayama R., Kimura T., Tomita T., Matsuno H., Morita Y., Matsushita I., Gejo R.: Efficient gene delivery to articular cartilage using electroporation. *Modern Rheum.* (in press)

2. 学会発表

・ Kimura T., Matsuno H., Katayama R., Tsumaki N., Yoshikawa H., Wakitani S.: Susceptibility to cartilage destruction resulting from inflammatory insult and its regulation. 4th International Conference on Bone Morphogenetic Proteins, 2002, October, Sacramento.

・ Katayama R., Wakitani S., Tsumaki N., Matsuno H., Yudoh K., Kimura T.: Repair of rabbit articular cartilage defect using CDMP1-transfected autologous mesenchymal stem cell derived from bone marrow. 66th ACR/ARHP Annual Scientific Meeting, 2002, October, New Orleans.

G. 知的財産権の出願

なし