

厚生労働科学研究研究費補助金

免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業

変形性膝関節症の生活機能維持・再建に関する研究

平成15年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 守屋 秀繁

平成16(2004)年 4月

目次

I. 総括研究報告書	
変形性膝関節症の生活機能維持・再建に関する研究	1
守屋秀繁	
II. 分担研究報告	
1. 変形性膝関節症による重度破壊関節に対する機能再建術の研究	5
守屋秀繁	
2. マウスゲノミクスを用いた変形性関節症の分子メカニズムの解明 —新規遺伝子 cystatin10 の関与—	7
中村耕三	
3. 変形性関節症軟骨の病態におけるメカニカルストレスと NO の関与について	12
井上 一	
4. 変形性膝関節症患者の各種生活動作解析	16
松本秀男	
5. MR 装置による膝関節軟骨の Glycosaminoglycan 濃度の評価	17
池平博夫	
6. 静水圧刺激が軟骨細胞に及ぼす効果に関する研究	19
牛田多加志	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	22
IV. 研究成果の刊行物・別刷	26

厚生労働科学研究費補助金（免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業）

総括研究報告書

変形性膝関節症の生活機能維持・再建に関する研究

主任研究者 守屋秀繁

千葉大学大学院医学研究院整形外科教授

研究要旨

急速に高齢化へと移行している我が国において、大きな社会問題の一つは生活機能低下をきたす慢性運動器疾患いわゆる生活機能病の増大である。中でも変形性関節症は日本人に特に多く、その数は正確には把握されていないが、約700万人から1000万人とも推定されている。本症は主として加齢変性と軟骨組織の損傷により生じ、進行すれば歩行などの日常生活動作にも支障を来す重大な疾患である。変形性膝関節症による生活機能上の障害とは慢性の膝痛とそれによる歩行障害であり、ひいては歩行不能による車いす生活を余儀なくされることである。その社会的損失は今後の高齢化の進行に伴い益々増大していくものと考えられる。従って変形性膝関節症の原因究明、早期診断、早期診断に基づく機能障害の予防、さらには著しい機能障害に陥ってしまった患者に対する機能回復術の確立は今後さらに重要な意義を持つものであり、従来行われてきた治療法の再検証を行うと共に、新しい治療法としての軟骨再生、関節鏡視下手術、人工関節置換術に関しても研究をおこなう。

分担研究者

中村耕三

東京大学大学院医学系研究科外科学専攻
感覚運動機能医学講座整形外科教授

井上 一

岡山大学大学院医歯学総合研究科
機能再生・再建科学専攻生体機能再生・再建学
講座教授

松本秀男

慶応義塾大学医学部整形外科助教授

池平博夫

放射線医学研究所画像医学部分子情報研究室
室長

牛田多加志 東京大学大学院医学系研究科教授

研究協力者

龍順之助

日本大学医学部整形外科教授

秋月 章

長野県厚生連長野松代総合病院整形外科

黒沢 尚

順天堂大学医学部整形外科教授

A. 研究目的

変形性膝関節症の病因としては遺伝的素因、環境的素因を含めて多くの因子が考えられているが、いずれにしても軟骨基質の変性が一次的な原因と考えられる。これには加齢に伴うコラーゲンなど軟骨基質の組成変化に加えて機械的ストレスの蓄積などが素因となるものと考えられる。初期には、主として軟骨の色調の変化やfibrillationなどの微弱な変性像を呈するにとどまり、正確な早期診断のなされぬまま最終的には軟骨基質の消失と骨棘形成など骨の変形へと進行していく。従って本研究の目的は、1) 変形性膝関節症の遺伝分子生物学的背景、2) 変形性膝関節症の発症における生化学的要因、3) 変形性膝関節症発症のバイオメカニクスの要因を解明することにより、我が国における変形性膝関節症発症の原因を明確にし、4) 変形性膝関節症の非侵襲的、かつ質的な早期診断法を開発することにより的確な病期診断と初期治療を可能とすることであり、さらに5) 骨・軟骨再生医学の基礎検討より臨床応用を図り、6) 重症変形性膝関節症に対する機能再建術の研究により医療経済上の損失を最小限に食い止め、高齢化社会における国民福祉の向上を目指すものである。

B. 研究方法

1) 変形性膝関節症の原因究明

①遺伝子学的素因の解明…昨年度、膝関節の靭帯と半月板の切除の組み合わせによって関節不安定性を加えることで、重度の異なる3つのタイプのマウス膝OA誘発モデル(C57BL/6、8週令)の作成に世界に先駆けて成功した。このモデルを候補遺伝子改変マウスに応用し、OAにおける各遺伝子の関与を検討する。②メカニカルストレスと一酸化窒素(NO)との関連の解明…培養軟骨細胞に対するメカニカルストレス負荷後の遺伝子発現について、マイクロアレイ法による解析を行い、NOの発現に関与するとされるiNOSなどの種々の因子の検討を行ってきた。本年度は軟骨保護作用をもつといわれる炎症性サイトカインであるIL-4の効果を*in vitro*、*in vivo*において検討する。③バイオメカニクスの要因の解明…健康人、人工膝関節置換術前後の患者を対象に正座等の深屈曲動作を含めた日本人特有の日常生活動作中の膝関節負荷を、三次元動作解析装置、表面筋電図を用いて計測し、疼痛スコア、X線撮影とあわせて、動作による関節負荷の差を検討した。また人工関節の機種による関節負荷の差も検討した。

2) 変形性膝関節症の早期診断法の確立

MRIを用いた組織内成分分析法の臨床実用化に関する研究…MRIを用いて、組織内成分分析法による関節軟骨を中心とした病期診断の臨床実用化をめざす。関節軟骨の基質構成高分子であるGlycosaminoglycan(GAG)は陰性荷電しており、正常軟骨では陰性荷電量が大きい。軟骨変性に伴い減少する。陰イオン性造影材であるGd-DTPA²⁺を経静脈投与し、関節軟骨に浸透するまで待機させた後、1.5Tの臨床MRI装置を使用し、T1強調像を撮像する。健康軟骨および変性軟骨のT1値の比較により、関節軟骨のGAG濃度の評価をおこなう。また実際の組織のGAG濃度との比較により本法の有用性を客観的に検討する。

3) 変形性膝関節症の治療の確立

①軟骨損傷、破壊に対する再生医学…昨年度は間欠的静水圧負荷により、MAPKカスケードの一つであるERKの活性化がSox9およびType2コラーゲンの発現を誘導し、軟骨細胞の再分化につながることを報告した。本年度は種々の静水圧刺激に対する関節軟骨細胞の応答のメカニズムに細胞内外のCa²⁺がどのように関与するかを

探る。

②変形性膝関節症による重度破壊関節に対する機能再建術に関する研究…昨年度は比較的重度の変形性膝関節症に対する鏡視下後内側切離術後の長期成績を報告した。本年度は疾患の重症度に合わせた手術術式選択を可能とすることを目標に、変形性膝関節症に対する人工関節全置換術、高位脛骨骨切り術、鏡視下後内側切離術に関して、どの程度の重症度の罹患膝にどの程度の術後成績が得られるかをX線学的分類と日整会膝治療成績判定基準(JOA score)、visual analog scale(VAS)、Japan Knee Osteoarthritis Measure(JKOM)などの評価法を用いて検討した。

尚、本研究において提供された生体試料及び実験動物を研究に使用する部分の倫理面には十分に配慮する。すなわち、採血等、生体試料を用いた実験及び実験動物を用いた実験は、すべてそれぞれの研究班の所属する機関の倫理委員会等で承認され、患者の同意を得ることを前提としている。また、ヒトゲノム・遺伝子解析研究にあたっては、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針を遵守し、被験者の人権を保護する目的から説明文と同意書を文書の形で残し、説明文の中にDNA研究もしくは遺伝子研究という文書を含むものとする。

C. D. 研究結果および考察

1) 変形性膝関節症の原因究明

①遺伝子学的素因の解明

今年度は、全身性に異所性骨化をきたす*11w*マウスの軟骨にのみ特異的に発現するcystein proteinase inhibitor familyの新規遺伝子cystatin10(Cst10)に着目した。マウス軟骨細胞用細胞株ATDC5においては分化誘導後、分化進行に伴いその発現量は増加し、またCst10遺伝子導入にてその石灰化能の亢進が見られることを確認した。Cst10遺伝子欠損マウス(Cst10KO)を作成したところ、Cst10KOは野生型との間に全身骨格の形態に差は見られなかったが、成長板下端の肥大軟骨細胞層での石灰化が低下していた。8週齢のCst10KOにOA誘発モデルを作成したところ、関節軟骨の破壊や軟骨細胞の肥大化に影響を及ぼさなかったが、骨棘形成が低下していた。また生理的条件下での膝蓋靭帯などの異所性石灰化も抑制されていた。以

上より Cystatin10 遺伝子が、骨棘形成が臨床問題となる病態において有効な治療の標的分子となることが示された。(中村ら)

②メカニカルストレスとの関連の解明

変形性膝関節症の病態に関わるメカニカルストレスおよび低酸素が軟骨細胞に及ぼす影響を検討した。まずラット培養軟骨細胞を用いて、伸長ストレス負荷前後の遺伝子発現について、cDNA マイクロアレイ法による解析をおこない、軟骨細胞にアポトーシスを誘導する一酸化窒素(NO)を合成する酵素である iNOS を含む 37 遺伝子の発現の有為な増強、46 遺伝子の減弱していることを確認した。そこで実際に iNOS の発現が、ストレス負荷で亢進し、IL-4 添加により容量依存的に発現が抑制されることを半定量 PCR、real-timePCR 法にて確認した。さらに Wistar rat の靭帯切離による変形性関節症モデルに対し、ラット rhIL-4 を連日関節内投与し、術後 2 週、4 週、6 週で肉眼的、組織学的に評価した。IL-4 投与により軟骨細胞のアポトーシスならびに関節軟骨破壊が有為に抑制できた。IL-4 の変形性関節症に対する治療薬としての可能性が示された。(井上ら)

③バイオメカニクスの要因の解明

動作解析装置を用いて、これまでに変形性膝関節症患者および人工膝関節置換術後患者合わせて 30 名 60 膝および健常者 20 名 40 膝について、日常生活動作中の膝関節負荷を計測した。変形性膝関節症患者では健常者と比較し深屈曲など負担の大きい動作で大腿四頭筋モーメントが低下しており、歩行中の内反変形の変化と、臨床症状との相関が認められた。深屈曲動作での大腿四頭筋モーメントは人工関節置換術後に増大を認め、患者の術後の良好な機能を示していると考えられると同時にリハビリテーションにおける大腿四頭筋筋力の強化が重要であることが確認された。(松本ら)

2) 変形性関節症の早期診断法の確立

関節軟骨の質的評価を非侵襲的におこなうため、軟骨基質を構成する分子の一つであるグリコサミノグリカン(GAG)濃度の測定をMRIを用いておこなう方法を検討した。現在までに46症例に対し評価を行なった。造影前のRI(=1/T1)値と造影後のRI値の差を用いて求めた、軟骨組織内の浸透した造影剤濃度と、実際の

GAG濃度に相関関係を認めた。またこの方法によりレントゲンや従来のMRI撮像により異常を捉えられない膝蓋大腿関節障害の症例の早期の軟骨変性を捉えることに成功した。(池平ら)

3) 変形性膝関節症の治療法の確立

①軟骨損傷、破壊に対する再生医学

今回は関節軟骨組織を表層・中層・深層の3つの領域に分類して、軟骨細胞の短時間および長時間の間欠的静水圧刺激に対するCa²⁺応答の違いを検討した。一過性のCa²⁺濃度上昇を起こす軟骨細胞の応答率は各層により異なっていた。また各種阻害剤を用いた系によりこの上昇が細胞外液からの流入、機械刺激受容チャネル、IP3系統の細胞内ストアからの流入が絡んでいることが示唆された。一方で長時間負荷をかけた場合、軟骨細胞は周期的なCa²⁺濃度の上昇下降(オシレーション)応答を示すことが分かった。これらのデータを基に、静水圧負荷下で軟骨細胞を長期培養するシステムを構築する予定である。(牛田ら)

②変形性膝関節症による重度破壊関節に対する機能再建術に関する研究

単純X線上、脛骨荷重面の骨の摩滅が認められるAhlback分類Grade3以上では人工膝関節全置換術が鏡視下後内側切離術に比較し、その術後成績で有意差をもって良好であったが、荷重面の骨の摩滅が認められないAhlback分類Grade2までの症例では鏡視下後内側切離術と人工膝関節全置換術との間で、JOA score およびVASに関して改善スコアおよび最終臨床症状スコアにおける有意差は認められなかった。以上より、関節裂隙が消失していても、脛骨荷重面の骨の摩滅が認められなければ、鏡視下後内側切離術が手術療法の一つとして選択されるものと考えられた。またJKOMを用いた解析では、『術前階段昇降困難度』、『術前立位時疼痛』、『術前しゃがみ込み・立ち上がりでの疼痛』などの項目での重症度が鏡視下後内側切離術の適応を決定する上で重要度が高いと思われた。(守屋ら)

E、結論

本年度の研究により、変形性膝関節症の発症に関わる病態、およびその進行のメカニズムがさらに明らかになった。これらの検討をさらに継

続・発展させ、変形性膝関節症による日常生活動作障害の根絶につなげていく所存である。

F、健康危険情報

なし

G、研究発表

分担研究報告書参照

H、知的財産権の出願・登録状況

特になし

厚生科学研究費補助金（免疫・アレルギー疾患予防・治療研究事業）

分担研究報告書

変形性膝関節症による重度破壊関節に対する機能再建術の研究

分担研究者 守屋秀繁

千葉大学大学院医学研究院整形外科学教授

研究協力者 黒澤 尚 順天堂大学医学部整形外科教授

龍順之助 日本大学医学部整形外科教授

秋月 章 長野県厚生連長野松代総合病院整形外科

研究要旨

変形性膝関節症に対する手術的治療法の適応に関して検討した。鏡視下後内側切離術の手術適応の判断に、単純レントゲン上の脛骨荷重面の骨の摩滅の有無および Japan Knee Osteoarthritis Measure (JKOM) を用いた術前評価が有用であると思われた。

A. 研究目的

変形性膝関節症に対する手術的療法として、人工関節置換術、骨切り術、関節鏡視下手術などがある。各々の治療法に長所、短所が挙げられるが、どの程度進行した病態にどの手術法を適応するのが適当であるかは議論のあるところである。そこで各々の治療法によって、どの程度の重症度の罹患膝にどの程度の術後成績が期待できるものかを検討した。検討に参加した施設は4施設で、いずれも当該疾患に対する手術療法が年間に100-150例以上施行されている施設である。

B. 研究方法

対象は千葉大学医学部附属病院整形外科、順天堂大学医学部附属病院整形外科、日本大学医学部附属板橋病院整形外科、長野県厚生連長野松代総合病院整形外科において、2001年4月より2002年12月までに鏡視下後内側切離術（Aggressive Arthroscopic Arthroplasty, 以下AAA）、高位脛骨骨切り術（以下HTO）、人工膝関節全置換術（以下TKA）を受けた比較的重度の変形性膝関節症患者149名187膝で、女性131名164膝、男性18名23膝である。手術時平均年齢は71.0歳であり、平均経過観察期間は1年7ヵ月であった。レントゲン重症度の評価には、Kellgren & Lawrence分類、Ahlback分類を用い、臨床成績の評価には日整会膝治療成績判定基準（JOA score）、Visual Analog Scale（VAS）、Japan Knee Osteoarthritis Measure（JKOM）を

用いた。統計学的検討をJOA score、VASのスコアの改善量、最終術後スコアに関してMann-Whitney U検定およびKruskal-Wallisの検定を用いて行なった。JKOMに関しては主成分分析、赤池の情報量基準を用いて解析した。

C. 研究結果

手術法の内訳はAAAが27例、HTOが24例、TKAが136例であった。手術時Kellgren & LawrenceのX線分類では、Grade2が2膝、Grade3が17膝、Grade4が168膝、Ahlback分類ではGrade1が11膝、Grade2が12膝、脛骨荷重面の骨の摩滅が認められ始めるGrade3が55膝、Grade4が57膝、Grade5が52膝であり、進行した変形性膝関節症が大多数であった。Ahlback分類Grade1,2群とGrade3,4,5群に分けて、それぞれに関して術式間での臨床症状に関して検討したところ、Grade3,4,5群では改善したスコア量、最終術後スコアに関してはJOA score、VASともに術式間に有意差を認めたが、Grade1,2群ではそれらに関しては術式間で有意差を認めなかった。JKOMを用いた解析では、主成分分析にて“膝の痛みやこわばり”および“日常生活の状態”に関する質問群が術前後でその成績への関与が大きいことの結果を受け、さらに同質問群の項目に絞って、赤池の情報量基準を用いて解析を進めたところ、『術前階段昇降困難度』、『術前立位時疼痛』、『術前しゃがみ込み・立ち上がりでの疼痛』の項目でAAAの適応を決定する上で重要度が高かった。

D. 考察

HTO、TKA は Ahlback 分類 Grade3 以上の変形性膝関節症に関しては、術後成績が良好であったが、大きな手術侵襲、骨癒合不全、術後感染、術後長期のリハビリテーション、人工関節のルーズニングなどのリスクが伴う。脛骨荷重面の骨の摩滅が認められない Ahlback 分類 Grade2 までの症例であれば関節裂隙が消失していても、必ずしも TKA ではなく、AAA で治療しうることが示された。また一方、臨床症状も変形性膝関節症の治療法をきめる上で重要な因子であるが、JOA score は客観的な要素が大きい印象がある。一方で JKOM は自己記入式の評価法で、項目も 25 項目と多項目に渡っており、“膝の痛みやこわばり”、“日常生活の状態”、“普段の活動など”、“健康状態について” などに関して主観的な評価をより詳細に把握することができる。今回の解析の結果、特に『術前階段昇降困難度』、『術前立位時疼痛』、『術前しゃがみ込み・立ち上がりでの疼痛』の重症度が AAA の術式選択に有用であると思われた。

E. 結論

鏡視下後内側切離術の手術適応の判断に、単純 X 線上の脛骨荷重面の骨の摩滅の有無および JKOM を用いた臨床症状の術前評価が有用であることが示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

A. 論文発表

佐粧孝久、和田佑一、守屋秀繁：変形性膝関節症に対する鏡視下手術- 鏡視下後内側切離術の適応と成績- リウマチ科, 30 (2) : 120-128, 2003

B. 学会発表

守屋秀繁：教育研修講演「膝関節外科・最近の話題」, 第 105 回北海道整形外科災害外科学会学術集会

Sasho, T; Wada, Y; Suzuki M, Tahara, M; Moriya, H Irregularity of medial femoral condyle on

MRI is an indicator for assessing disease severity of medial type osteoarthritic knee. ORS, 2004.

田原正道、大河昭彦、山崎正志、鈴木昌彦、佐粧孝久、和田佑一、守屋秀繁：関節石灰化制御遺伝子 ANKH の変形性関節症への関与, 第 18 回日本整形外科学会基礎学術集会

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

厚生労働科学研究費補助金（免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業）
分担研究報告書

マウスゲノミクスを用いた変形性関節症の分子メカニズムの解明
- 新規遺伝子 cystatin 10 の関与 -

分担研究者 中村耕三（東京大学医学部整形外科・脊椎外科 教授）

研究要旨：我々自身がクローニングした軟骨特異的新規遺伝子である cystatin 10 (Cst10) の遺伝子欠損マウス (Cst10KO) を作出した。Cst10KO では成長板の肥大軟骨細胞層における石灰化障害が見られたが、成長障害などの生理的な異常は見られなかった。一方、力学的負荷や老化などの病的条件下においては明らかな石灰化障害が認められたことから、その骨棘形成が臨床問題となる病態において有効な治療の標的分子になる可能性が示された。

A. 研究目的

変形性関節症(OA)は高齢者のQOLを低下させている主要な要因のひとつであるが、その細胞・分子レベルの背景に関しては殆ど解明されていない。この要因のひとつとして、遺伝子変異のシステムが確立されているマウスにおいて適度なOA誘発モデルが存在しなかったことが挙げられる。我々は昨年までの検討で、微小外科手術手技を応用し膝関節の靭帯と半月板の切除の組み合わせによって関節不安定性を加えることで3つのタイプのマウス膝OA誘発モデルの作製に成功した。現在、このモデルを候補遺伝子の遺伝子変異マウスに應用することによって、OAの発症における各遺伝子の関与を検討することを目指している。本年度は、我々自身がクローニングに成功した新規遺伝子である cystatin 10 (Cst10)の関与について検討した。

B. 研究方法

食餌中のリン濃度によって *11w* マウスの耳介軟骨における発現が異なる遺伝子を differential display 法により解析した。その結果、全身の組織の中で軟骨でのみ特異的に発現している1種類の遺伝子を特定した。この遺伝子 Cst10 は、cysteine proteinase inhibitor の family に属し、*11w* の耳介軟骨での発現はリン負荷により著明に亢進した。そこで、Cst10 の生体内高次機能を解明することを目的として、Cst10 遺伝子欠損マウス (Cst10KO) を作出した。Cst10 の3つのエクソンの内、転写開始点を含む第1エクソンをネオマイシン耐性遺伝子で置換する構造のターゲットベクターを作製し、ES細胞を用いた標的遺伝子組み換え法によって、キメラマウス、ヘテロマウスを経て、ホモ欠損マウ

ス Cst10KO を作出した。このマウスを生理的条件下、OAモデル負荷下、高齢モデルにおいてレントゲンおよび組織学的検討を行った。(倫理面への配慮)

本研究は、東京大学医学部研究倫理審査委員会の承認を得て行っている。

C. 研究結果

8週齢の全身X線像では雄雌共に、Cst10KO と WT の間に全身骨格の形態に大きな差はなかった。成長板軟骨の厚さや軟骨細胞の柱状配列も正常に保たれていたが、成長板下端の肥大軟骨細胞層での石灰化が Cst10KO で低下していた。マウス成長板から単離した軟骨細胞培養において、Alcian blue 染色では差は見られなかったが、Alkaline phosphatase 染色や Alizarin red 染色では Cst10KO で染色性の低下が見られた。この8週齢の Cst10KO に上記のOAモデルを作成したところ、軟骨の破壊や軟骨細胞の肥大化は WT と同様に見られたが、骨棘形成が低下していた。3次元CTにて骨棘の体積を測定したところ、Cst10KO ではWTの約1/3に減少していた。また、12ヶ月齢の生理的条件下のWTの全身X線撮影では、膝蓋靭帯やアキレス腱部の異所性石灰化が観察されたが、Cst10KO ではこれらの石灰化が著明に抑制されていた。3次元CTにより、アキレス腱部の異所性石灰化部分の体積を測定したところ、Cst10KO ではWTと比較して約60%減少していた。

D. 考察

Cst10KO では成長板の肥大軟骨細胞層における石灰化障害が見られた。しかしながら、成長障害などのマクロの異常は見られず、生理的条件下においては何らかの代償機構が働

いているものと考えられた。一方、力学的負荷や老化などの病的条件下においては明らかな石灰化障害が認められた。

E. 結論

新規遺伝子 Cst10 は、変形性脊椎症など、その骨棘形成が臨床上問題となる病態において有効な治療の標的分子になることが期待される。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Shimoaka T, Kamekura S, Chikuda H, Hoshi K, Chung U, Akune T, Maruyama Z, Komori T, Matsumoto M, Ogawa W, Terauchi Y, Kadowaki T, Nakamura K, and Kawaguchi H: Impairment of bone healing by insulin receptor substrate-1 deficiency. *J Biol Chem* (in press).
2. Seto H, Fujii T, Kamekura S, Miura T, Yamamoto A, Chikuda H, Ogata T, Imamura T, Miyazono K, Oda H, Nakamura K, Kurosawa H, Chung U, Kawaguchi H, and Tanaka S: Regulation of chondrogenic differentiation of synovial fibroblasts: segregation of the roles of Smad pathways and p38 MAP kinase pathways. *J Clin Invest* (in press).
3. Akune T, Ohba S, Kamekura S, Yamaguchi M, Chung U, Kubota N, Terauchi Y, Harada Y, Azuma Y, Nakamura K, Kadowaki T, and Kawaguchi H: PPAR α insufficiency enhances osteogenesis through osteoblast formation from bone marrow progenitors. *J Clin Invest* (in press).
4. Hoshi K, Ogata N, Shimoaka T, Terauchi Y, Kadowaki T, Kenmotsu S, Chung U, Ozawa H, Nakamura K, and Kawaguchi H: Deficiency of insulin receptor substrate-1 impairs skeletal growth through early closure of epiphyseal cartilage. *J Bone Miner Res* 19: 214-223, 2004.
5. Itaka K, Harada A, Yamasaki Y, Nakamura K, Kawaguchi H, Kataoka K: In situ single cell observation by fluorescence resonance energy transfer reveals fast intra-cytoplasmic delivery and easy release of plasmid DNA complexed with linear polyethylenimine. *J Gene Med* 6: 76-84, 2004.
6. Matsubara T, Tsutsumi S, Pan H, Hiraoka H, Oda R, Nishimura M, Kawaguchi H, Nakamura K, and Kato Y: A new technique to expand human mesenchymal stem cells using basement membrane extracellular matrix. *Biochem Biophys Res Commun* 313: 503-508, 2004.
7. Koshizuka Y, Yamada T, Hoshi K, Ogasawara T, Chung U, Kawano H, Nakamura Y, Nakamura K, Ikegawa S, and Kawaguchi H: Cystatin 10, a novel chondrocyte-specific protein, may promote the last steps of the chondrocyte differentiation pathway. *J Biol Chem* 278: 48259-48266, 2003.
8. Akiyama T, Bouillet P, Miyazaki T, Kadono Y, Chikuda H, Chung U, Fukuda A, Hikita A, Seto H, Okada T, Inaba T, Sanjay A, Baron R, Kawaguchi H, Oda H, Nakamura K, Strasser A, and Tanaka S: Regulation of osteoclast apoptosis by ubiquitylation of proapoptotic BH3-only Bcl-2 family member Bim. *EMBO J* 22: 6653-6664, 2003.
9. Saegusa M, Murakami M, Nakatani Y, Yamakawa K, Katagiri M, Matsuda K, Nakamura K, Kudo I, and Kawaguchi H: Contribution of membrane-associated prostaglandin E₂ synthase (mPGES) to bone resorption. *J Cell Physiol* 197: 348-356, 2003.
10. Itaka K, Yamauchi K, Harada A, Nakamura K, Kawaguchi H, Kataoka K: Polyion complex micelles from plasmid DNA and poly (ethylene glycol)-poly(L-lysine) block copolymer as serum-tolerable polyplex system: Physicochemical properties of micelles relevant to gene transfection efficiency. *Biomaterials* 24: 4495-4506, 2003.
11. Kawano H, Sato T, Yamada T, Matsumoto T, Sekine K, Watanabe T, Nakamura T,

- Fukuda T, Yoshimura K, Yoshizawa T, Aihara K, Yamamoto Y, Nakamichi Y, Metzger D, Chambon P, Nakamura K, Kawaguchi H, and Shigeaki Kato: Suppressive function of androgen receptor in bone resorption. *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 9416-9421, 2003.
12. Seichi A, Nakajima S, Takeshita K, Kitagawa T, Akune T, Kawaguchi H, and Nakamura K: Image-guided resection of the thoracic ossification of the ligament flavum. *J Neurosurg* 99: 60-63, 2003.
 13. Ogihara S, Seichi A, Iwasaki M, Kawaguchi H, Kitagawa T, Tajiri Y, and Nakamura K: Concurrent spinal schwannomas and meningiomas. Case illustration. *J Neurosurg* 98: 300, 2003.
 14. Seichi A, Nakajima S, Kitagawa T, Takeshita K, Iwasaki M, Kawaguchi H, Oda H, Nakamura K: Image-guided surgery for cervical disorders in rheumatoid arthritis. *Mod Rheumatol* 12: 329-332, 2002.
2. 学会発表
1. 星地亜都司、竹下克志、川口浩、中島勲、阿久根徹、筑田博隆、中村耕三: 頸椎椎弓形成術後にみられるMRI 髄内変化の拡大 - 前向き研究 -. 第32回日本脊椎脊髄病学会. 2003. 4. 4-6 (福岡).
 2. 星地亜都司、中島勲、北川知明、竹下克志、阿久根徹、筑田博隆、川口浩、中村耕三: コンピューターナビゲーションシステムを用いた頸椎インストルメンテーション再手術. 第32回日本脊椎脊髄病学会. 2003. 4. 4-6 (福岡)
 3. 川口浩、亀倉暁、池田敏之、池川志郎、中村耕三: Reverse & forward genetics を用いた変形性関節症の病態解明へのアプローチ. 第47回日本リウマチ学会総会 (シンポジウム: 変形性関節症の発症機序と治療). 2003. 4. 24-25 (京王プラザホテル、東京).
 4. 茂呂徹、中村耕三、高取吉雄、川口浩、石原一彦: 人工関節摺動面の MPC ポリマー処理による弛緩緩和. 第47回日本リウマチ学会総会 (ワークショップ: 人工関節). 2003. 4. 24-25 (京王プラザホテル、東京).
 5. 位高啓史、原田敦史、山崎裕一、中村耕三、川口浩、片岡一則: fluorescence resonance energy transfer (FRET) を用いた polyethylenimine/DNA polyplex の細胞内挙動の観察. 第3回遺伝子・デリバリー研究会. 2003. 5. 9 (KKR ホテル東京、東京).
 6. 星地亜都司、竹下克志、川口浩、中島勲、阿久根徹、筑田博隆、中村耕三: 頸椎椎弓形成術後の上肢麻痺 - MRI による検討 -. 第76回日本整形外科学会学術集会. 2003. 5. 22-25 (石川県立音楽堂、金沢).
 7. 竹下克志、星地亜都司、岩崎元重、阿久根徹、川口浩、中村耕三: 頸椎砂時計腫に対する片側椎弓・椎間関節切除に固定は必要か. 第76回日本整形外科学会学術集会. 2003. 5. 22-25 (石川県立音楽堂、金沢).
 8. 阿久根徹、川口浩、緒方直史、星地亜都司、大西五三男、中村耕三: 脊椎後縦靭帯骨化症の骨化傾向と糖代謝関連因子の検討. 第76回日本整形外科学会学術集会. 2003. 5. 22-25 (石川県立音楽堂、金沢).
 9. 茂呂徹、高取吉雄、石原一彦、川口浩、金野智浩、安富義幸、瀧川順庸、松下富春、中村耕三: 生体膜類似構造を持つ MPC ポリマーの人工関節への応用に関する検討 - 第2報: 股関節シミュレーターによる摩擦特性の評価 -. 第76回日本整形外科学会学術集会. 2003. 5. 22-25 (石川県立音楽堂、金沢).
 10. 松田浩一、井上耕一、阿久根徹、星和人、河野博隆、山川聖史、中村祐輔、中村耕三、川口浩: メカニカルストレスに反応して骨量維持に働く新規遺伝子 Znt5 (Zinc transporter 5) の単離と機能解析 (学会奨励賞受賞). 第21回日本骨代謝学会 (IBMS-JSBMR 2003). 2003. 6. 3-7 (大阪国際会議場、大阪).
 11. 池田敏之、馬淵昭彦、亀倉暁、福田明、平岡久忠、鄭雄一、川口浩、高取吉雄、滝川正春、木村友厚、須藤啓広、内田淳正、中村耕三、池川志郎: Sox9 による IX 型コラーゲン $\alpha 3$ 鎖遺伝子の転写誘導は変形性膝関節症の発症に関与する (学会奨励賞受賞). 第21回日本骨代謝学会 (IBMS-JSBMR 2003). 2003. 6. 3-7 (大阪国際会議場、大阪).
 12. 茂呂徹、高取吉雄、金野智浩、石原一彦、近津大地、片桐未佳、中村耕三、川口浩: 生体膜類似構造を有する MPC ポリマー被覆による人工関節の弛緩防止. 第21回日本骨代謝学会 (IBMS-JSBMR 2003). 2003. 6.

- 3-7 (大阪国際会議場、大阪).
13. 亀倉暁、星和人、下赤隆、筑田博隆、鄭雄一、中村耕三、川口浩：マウス変形性関節症(OA)誘発モデルの確立とこれを用いたOA発症におけるMMP-13の関与. 第21回日本骨代謝学会 (IBMS-JSBMR 2003). 2003. 6. 3-7 (大阪国際会議場、大阪).
 14. 池田敏之、亀倉暁、馬淵昭彦、関庄二、黄郁代、筑田博隆、鄭雄一、木村友厚、川口浩、中村耕三、池川志郎：軟骨再生医療を目指したSOX9/SOX5/SOX6の遺伝子同時導入による軟骨誘導. 第21回日本骨代謝学会 (IBMS-JSBMR 2003). 2003. 6. 3-7 (大阪国際会議場、大阪).
 15. 大庭伸介、池田敏之、矢野文子、釘宮典孝、筑田博隆、高戸毅、中村耕三、Alex Lichter、川口浩、鄭雄一：COL1-GFPマーカー遺伝子導入による幹細胞から骨芽細胞への分化モニタリングシステムの開発. 第21回日本骨代謝学会 (IBMS-JSBMR 2003). 2003. 6. 3-7 (大阪国際会議場、大阪).
 16. Hirotaka Chikuda, Kazuto Hoshi, Takashi Shimoaka, Toru Akune, Hirotaka Kawano, Ken-ichi Kawano, Kozo Nakamura, Kajuro Komeda, Ung-il Chung, Hiroshi Kawaguchi: Dysfunction of cGMP-dependent protein kinase 2 causes dissociation of proliferation and differentiation of growth plate chondrocytes in Minature rat Ishilawa (Travel Award 受賞). IBMS-JSBMR 2003. 2003. 6. 3-7 (大阪国際会議場、大阪).
 17. 位高啓史、原田敦史、山崎裕一、中村耕三、川口浩、片岡一則：Linear ポリエチレンイミンの高遺伝子発現メカニズム-FRETを用いた細胞内観察. 第19回日本DDSS学会. 2003. 6. 19-20 (国立京都国際会館、京都).
 18. Koichi Matsuda, Koichi Inoue, Kiyofumi Yamakawa, Hirotaka Kawano, Toru Akune, Kazuto Hoshi, Yusuke Nakamura, Kozo Nakamura, Hiroshi Kawaguchi: Zinc transporter 5 (Znt5) is an essential molecule for mechanical stress signaling in bone (Young Investigator Award). 25th annual meeting of the American Society for Bone and Mineral Research. 2003. 9.19-23 (Minneapolis, Minnesota, USA).
 19. Takashi Yamada, Hirotaka Kawano, Toru Fukuda, K. Yoshimura, Takashi Nakamura, Satoru Kamekura, Ung-il Chung, Yu Koshizuka, Kozo Nakamura, Shigeaki Kato, Hiroshi Kawaguchi: Cystatin 10, a novel chondrocyte-specific protein, contributes to pathogenesis of osteoarthritis and ectopic ossification through chondrocyte calcification (Young Investigator Award). 25th annual meeting of the American Society for Bone and Mineral Research. 2003. 9.19-23 (Minneapolis, Minnesota, USA).
 20. Satoru Kamekura, Kazuto Hoshi, Takashi Shimoaka, Ung-il Chung, Hirotaka Chikuda, Kozo Nakamura, Hiroshi Kawaguchi: Establishment of novel experimental osteoarthritis models in mice. 25th annual meeting of the American Society for Bone and Mineral Research. 2003. 9.19-23 (Minneapolis, Minnesota, USA).
 21. Toshiyuki Ikeda, Akihiko Mabuchi, Akira Fukuda, Satoru Kamekura, Ikuko Kou, S. Seki, Hisatada Hiraoka, Alira Kawakami, Seizo Yamamoto, Ung-il Chung, Yoshio Takatori, M. Takigawa, Hiroya Sakai, A. Sudo, A. Uchida, Kozo Nakamura, Hiroshi Kawaguchi, Shiro Ikegawa: Transcriptional induction of the gene encoding $\alpha 3$ chain of type IX collagen (*COL9A3*) by SOX9 contributes to the susceptibility of knee osteoarthritis. 25th annual meeting of the American Society for Bone and Mineral Research. 2003. 9.19-23 (Minneapolis, Minnesota, USA).
 22. Toshiyuki Ikeda, Hiroshi Kawaguchi, Satoru Kamekura, Akihiko Mabuchi, I. Kou, Kazuto Hoshi, Kozo Nakamura, Shiro Ikegawa, Ung-il Chung: Combination of SOX5, SOX6 and SOX9 is sufficient for chondrogenesis. 25th annual meeting of the American Society for Bone and Mineral Research. 2003. 9.19-23 (Minneapolis, Minnesota, USA).
 23. 茂呂徹、中村耕三、高取吉雄、川口浩、石原一彦、金野智浩、瀧川順庸、松下富春、山脇昇：ポリエチレンライナー表面のMPCポリマー処理による人工関節の長寿命化. 第25回バイオマテリアル学会. 2003. 12. 16-17 (大阪国際会議場、大阪).

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

変形性関節症軟骨の病態におけるメカニカルストレスと NO の関与について

分担研究者 井上 一

岡山大学大学院医歯学総合研究科教授

研究要旨

ラット膝軟骨細胞のメカニカルストレスに対する遺伝子発現の変化と炎症性サイトカインに対し軟骨細胞保護的に働くと考えられる IL-4 の効果を *in vitro*, *in vivo* で検討した。IL-4 は正常軟骨細胞において、メカニカルストレスによって発現が亢進した iNOS 遺伝子の発現および NO 産生を *in vitro* で抑制した。さらに rhIL-4 の関節内投与はラット実験的 OA における軟骨破壊を抑制した。

A. 研究目的

我々は前年度の研究で、生後 1 週齢の培養ラット軟骨細胞に伸長ストレス負荷前後での遺伝子発現の変化を cDNA マイクロアレイにより網羅的に解析した。検討した 1081 の遺伝子のうち、伸張ストレスによって iNOS, Cathepsin B, c-myc, TIMP-1, TGF- β 3, VCAM-1 を含む 37 遺伝子の発現が有為に増強し、IGFBP-5, MMP-3 を含む 46 遺伝子の発現が低下することを確認した。さらに培養液中に IL-4 を添加した後に伸長ストレスを負荷し、発現が変化した遺伝子群との比較から、ストレスにより発現が亢進し、IL-4 添加により発現が減弱した Cathepsin B および iNOS に注目した。RT-PCR および real-time PCR による検討の結果、iNOS mRNA はストレス負荷後 24 時間でその発現が有為に亢進すること、IL-4 添加により、用量依存性に有為に発現が減弱することが判明した。同様に Cathepsin B についても real-time PCR により IL-4 添加によりその発現が有為に低

下することを確認した。今年度は力学的負荷によって誘導される変形性関節症(OA)モデルをラット膝関節に効率的に作成すること、IL-4 の関節内直接投与による IL-4 の *in vivo* における効果を組織学的に検討することを主たる目的とした。

B. 研究方法

本研究に使用した実験動物は岡山大学医学部動物実験施設において SPF コンディション下に哺育され、屠殺時はすべてエーテルあるいは Pentobarbital 麻酔下に無痛下に安楽死させた。

1. ラット OA モデルの作成:

Pentobarbital およびエーテル麻酔下に体重 200g の雄ウイスターラットの右膝関節を無菌的に切開し、関節不安定性を惹起し、2, 4, 6 週でエーテル麻酔下に安楽死させ、膝関節の組織学的検討により軟骨破壊に及ぼす影響を調べた。前十字靭帯(ACL)単独、あるいは内側側副靭

帯(MCL)及び前十字靭帯(ACL)を切離した群では、軟骨破壊は軽度に止まり、薬効評価が困難であったが、MCL、ACL 切離に内側半月板切除を追加することで比較的強い軟骨破壊を誘導することが可能となった(OA 群)。

2. rhIL-4 関節内投与実験

右膝関節にOAを作成後、左膝関節は関節包までの切開のみとした(Sham 群)。OA 群の半数にはラット rhIL-4 (100 ng / 50 μ l) を連日関節内投与(治療群)、残りのコントロール群は PBS を同量関節内投与した。Sham 群は未治療とした。術後2週、4週、6週で膝関節を採取、肉眼的観察後、パラフォルムアルデヒド固定、脱灰後、パラフィンブロックを作成した。切片はプロテオグリカン量の評価のためにサフラニン 0 染色を行い、組織学的グレード(修正 Mankin スコア)、細胞容積の縮小、各の濃染像を指標にアポトーシスに陥った軟骨細胞数をカウントし(apoptosis index)、比較検討した。また組織酸化ストレスの指標として NO が組織中の蛋白のチロシン残基をニトロ化して生じるニトロチロシンに対する免疫染色を行った。

C. 研究結果

ラット実験的OA膝の肉眼的観察ではSham 群では術後4週でも光沢に富む正常軟骨が観察されたのに比べ、OA 群では2週で関節軟骨表面の粗造化が、また4週では軟骨変性に加え、大腿骨および脛骨に骨棘形成が認められ、6 週では特に脛骨内側顆部に強い軟骨破壊を認めた。一方で IL-4 投与群では軟骨の粗造化、破壊は各週において抑制されていた。

サフラニン染色では Sham 群では正常の細胞配列と全層性の強い染色性を認めたのに対し、OA 群では2週で細胞のクローニング、サフラニン 0 に対する染色性の軽度の低下を、4週では細胞数の減少とサフラニン 0 の染色性のさらなる低下を認め、6 週では軟骨基質の消失および繊維性組織による被覆がみられた。一方 IL-4 の関節内投与により治療群では2週で表層のみのサフラニン 0 に対する染色性の低下、4 週で軟骨細胞の軽度増殖、6 週で中間層に至るサフラニン 0 の染色性低下を認めたが、強い軟骨破壊には至らなかった。修正 Mankin スコアは 2, 4, 6 週において OA 群でそれぞれ 2.5 ± 1.7 , 9.0 ± 1.7 , 10.7 ± 1.5 点、治療群でそれぞれ 1.0 ± 0.0 , 3.3 ± 1.2 , 5.3 ± 0.6 点であり、治療群で有意に軟骨破壊が抑制されていた。

また、軟骨細胞のアポトーシス出現率は2、4、6週で OA 群ではそれぞれ 10.9 ± 3.3 , $20.5 \pm 7.2\%$ 、細胞数減少のため測定不能であったのに対し、治療群では 8.2 ± 4.7 , 13.1 ± 1.9 , $14.3 \pm 2.5\%$ と治療群で有意に抑制されていた。また、OA 変化に伴い、ニトロチロシン陽性細胞率が増加することが明らかとなった。

D. 考察

加齢、異常なメカニカルストレス、遺伝的素因は OA における軟骨変性の重要な risk factor である。なかでも異常なメカニカルストレスは、関節の形態、外傷、体重増加、職業、生活様式などの因子によって引き起こされ、OA の原因あるいは悪化因子となる。本研究結果からは、ラットにおいては内側側副靭帯切離、内側半月板切除を加えると、軟骨破壊は4—6週で急速に進行

することからも、加齢とは関係なく、程度によってはメカニカルストレスのみでOA病態の再現が可能であることを示す。

向炎症性サイトカインの産生あるいは活性を抑制する抗炎症性サイトカインには IL-4, IL-10, IL-13 があり、種々の炎症プロセスにおいてこれを抑制することが知られているが、その効果は細胞種に依存性であるとされる。軟骨組織においては、IL-4 と IL-10 は IL-1 の産生を抑制し、IL-1ra の産生を亢進させる一方で軟骨細胞における誘導型 NO 合成酵素の発現を抑制することで、IL-1 を介したプロテオグリカン産生抑制を阻害し、軟骨破壊抑制的に働く。Yeh らは、IL-4 は IL-1, IL-1+TNF、あるいは LPS によるプロテオグリカンの変性を MMP や TIMP の発現レベルを変えなく抑制することから、アグリカナーゼ、カルパイン、カテプシン、プラスミノゲンアクチベーターなどの発現抑制を制御する可能性を示唆しているが、我々の一連の研究結果からは IL-4 が力学的ストレスにより亢進するカテプシンの発現を抑制することがすでに判明している。一方、Lubberts らはマウスにコラーゲン関節炎を誘導し、IL-4 および IL-10 の同時投与が軟骨破壊を有意に抑制することを報告しており、IL-4 が実験的 OA の軟骨破壊に対しても効力を発揮する可能性は高いと考えられる。

一方、本研究で注目している一酸化窒素(NO)は生体防御的にも障害性にも働く両刃の剣であるが、関節炎症においても、過剰に産生されれば、プロテオグリカン産生抑制、II 型コラーゲン産生抑制、MMP 活性化、細胞接着やシグナル伝達阻害、アポトーシスの誘導などを介して軟骨組織障害性に働く。本研究は *in vitro* でメカニ

カルストレスにより発現が亢進する NO 合成酵素の遺伝子発現が IL-4 添加により容量依存性に発現が抑制されること、また NO₂/NO₃ assay により培養液中の NO_x 濃度も IL-4 添加により有意に減少することを初めて示した。さらに、今年度の研究においてラット膝関節に作成した OA に対しては、IL-4 の関節内投与により治療群ではコントロール群に比べて肉眼的スコアは有意に改善しており、組織学的にも軟骨細胞のアポトーシスならびに関節軟骨破壊は有意に抑制されていた。これらの結果は IL-4 は正常軟骨細胞においてメカニカルストレスによって発現が亢進した iNOS 遺伝子の発現および NO 産生を *in vitro* で抑制し、その関節内投与はラット実験的 OA における軟骨破壊をある程度抑制し得ることを示唆するものと考えられる。今後さらにラット OA モデルにおける他の軟骨破壊因子に対する IL-4 の効果の検討、IL-4 の投与量やウイルスベクターを用いた IL-4 の強制発現の効果の検討を要する。

E. 結論

- 1) ACL, MCL 切離および内側半月板切除により再現性の高いラット膝関節の OA モデルを確立した。本モデルでは術後比較的早期に軟骨の OA 変化をきたし、術後6週までに強い軟骨破壊をきたした。
- 2) ラット OA モデルに対する IL-4 の関節内投与は肉眼的、組織学的に軟骨破壊抑制効果を示し、軟骨細胞のアポトーシスを抑制した。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

西田圭一郎、土井英之、藤原一夫、井上

一：変形性関節症における軟骨破壊と

NO. In: 平澤泰介、井上 一、高岡邦夫

ほか・編. 先端医療シリーズ 22:「整形

外科の最新医療」、東京:先端医療技術

研究所;2003、pp.81-87.

2. 学会発表

1) 西田圭一郎、土井英之、依光正則、宮澤

慎一、井上 一、清水 晃、滝川正春、中西

徹:ラット軟骨細胞に対するメカニカルストレ

ス後の遺伝子発現に与えるIL-4の効果につ

いて.日整会誌、Vol.77, No.8: S919, 2003

2) K Nishida, H Doi, A Shimizu, M

Yorimitsu, M Takigawa, H Inoue. The

role of IL-4 in the control of

mechanical stress-induced

inflammatory mediators by rat

chondrocytes. Arthritis Res, Vol.5,

Suppl.3: S18, 2003.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

変形性膝関節症患者の各種生活動作解析

（分担）研究者 松本 秀男 慶應義塾大学整形外科助教授

研究要旨

変形性膝関節症患者を対象に3次元動作解析装置をもちいて日常生活動作における膝負荷の計測を行った。患者では動作中の屈曲角度や大腿四頭筋力の低下、内反変形の増大が見られた。動作解析による患者の計測は、病態把握や治療効果判定に有用である。

A. 研究目的

変形性膝関節症（以下OA）は人口の高齢化により年々増加している。日本では膝を深く曲げる機会が欧米に比し多いが、これらの動作中は膝に大きなストレスが加わると予想され、生活習慣がOAの発症要因の一つであると考えられる。本研究では昨年引き続きOA患者の日常生活動作における膝関節負荷、関節動態の解析を行った。

B. 研究方法

3次元動作解析装置を用いて片側に人工関節手術を行ったOA患者17名34膝、および健常者20名40膝について日常生活動作を計測した。3台の特殊カメラおよび床反力計から得たデータをもとにInverse Dynamics法により関節負荷を算出した。また、前額面における動作中の膝関節動態を評価した。

（倫理面への配慮）

計測にあたり書面を用いて計測の危険性などにつき十分なインフォームドコンセントを行った。計測では針をさすなど侵襲は全くなく、倫理上問題ないと判断した。

C. 研究結果

OA患者ではすべての動作中の膝屈曲角度が減少していた。加えて階段くだりや深屈曲など負担の大きい動作で健常者に比べ大腿四頭筋モーメントの減少が顕著であった。また人工関節手術により、大腿四頭筋モーメントは増加していた。さらにOA患者では、その病期が進むほど歩行中の内反変形が増大することが明らかになり、内反変化量は臨床症状と相関を認められた。

D. 考察

OA患者では動作中の大腿四頭筋機能が低下していることが明らかになり、リハビリテーションによる大腿四頭筋筋力の強化が重要であることが確認された。また平地歩行中の内反変形が大きく、これが疼痛や病気の進行と関連していることが示唆された。人工関節に関しては、手術によりモーメントの改善が認められ、これが術後の良好な機能を示唆していると考えられた。人工関節のデザインによる差は明らかでなかったため、今後屍体実験による検討が必要と考えられた。

E. 結論

動作中の関節負荷は、変形性膝関節症の臨床症状、関節変形の程度や術後機能を反映しており、その病態把握、治療効果判定に有用であると考えられた。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

名倉武雄他、変形性膝関節症患者の動作解析。膝, Vol 28, p14-16, 2003.

Nagura T, et al. Is high flexion following total knee arthroplasty safe? Submitted to Journal of Arthroplasty, 2003

2. 学会発表

畔柳裕二他、変形性膝関節症患者における歩行時内反角度の変化。日本膝関節学会, 2004

H. 知的財産権の出願・登録状況

今のところ予定なし。

厚生労働科学研究費補助金(免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業)
(分担)研究報告書

MR装置による膝関節軟骨の Glycosaminoglycan 濃度の評価
分担研究者 池平 博夫 放射線医学総合研究所、分子情報研究室長

研究要旨 MR装置による膝関節軟骨の Glycosaminoglycan 濃度の定量評価を、Gd-DTPA²⁻を用いて行った。本方法では関節軟骨の障害の程度を定量的に表示することが可能で、画像化も試みた。

A. 研究目的

関節軟骨の機能は、軟骨組織内の Glycosaminoglycan (GAG) など基質構成高分子の濃度に大きく依存するが、従来この測定は、組織生検による組織検査により行われており、侵襲的であることに加え評価が採取した一部の組織しか行えず、組織全体を評価することは困難であった。今回、contrast agent として Gd-DTPA²⁻を用いて MRI 撮影を行うより、関節軟骨中の GAG 濃度を非侵襲的に評価する方法の確立を目指す。

B. 研究方法

検査法は、Gd-DTPA²⁻を経静脈投与し、関節軟骨にて T₁強調像を撮像する。得られた画像から T₁計算画像を作成し、健常軟骨の T₁に浸透するまで約2時間程度待機させた後、放医研所属のMRI装置である Philips 社製 Gyroscan internal.5T を使用し、Inversion Recovery 法値と変性軟骨の T₁値を比較することにより関節軟骨の GAG 濃度の評価を行った。

(倫理面への配慮)

放射線医学総合研究所の倫理審査委員会において、厳正な倫理審査を経て検査を行い、インフォームドコンセントおよび被験者の承諾を得ている。

C. 研究結果

昨年度より引き続き、46症例に於いて本法による評価を行った。緩和時間から軟骨組織中の GAG 濃度の定量化を試み、実用性のある定量的データを得ることに成功した。また、従来の画像診断法で異常が見られない早期病変を画像化した。

D. 考察

これまで利用されてきた関節軟骨に対する MRI 評価の対象は主に形態的評価であり、質的評価を行うことは困難と考えられていた。今回用いた方法では、関節軟骨中の GAG 濃度を評価することが可能であり、この結果は関節軟骨の機能に強い相関を示すものと考えられる。

E. 結論

本評価法は、変形性関節症症例に対する早期診断や治療法の選択、治療効果の判定

等に於いて、極めて有用な手段となりうるものと考えられた。

F. 健康危険情報

無し

G. 研究発表

1. 論文発表

Hiroo Ikehira, Atsuya Watanabe, Takayuki Obata, Hiroshi Tsujii, Kenneth M. Jones, Li Shun, Hideshige Moriya: The development of three-dimensional T_1 image calculation program in proportion to the DICOM data of any marketing clinical MRI systems. Magnetic Resonance Imaging (in press).

2. 学会発表

1) 渡辺淳也、和田佑一、池平博夫、守屋秀繁: イオン性造影剤を用いたMRIによる自家培養軟骨細胞移植術後の修復軟骨中グリコサミノグリカン濃度の評価. 中部日本整形災害外科学会第101回学術集会(静岡・浜松)2003.10.2-3

2) 渡辺淳也、和田佑一、池平博夫、小島隆行、植田琢也、田村充、生駒洋子、守屋秀繁: イオン性造影剤を用いたMRIによる自家培養軟骨細胞移植後の修復軟骨中グリコサミノグリカン濃度の評価. 第31回日本磁気共鳴医学会大会(山梨・富士吉田)2003.9.25-27

3) Atsuya Watanabe, Yuichi Wada, Hideshige Moriya, Hiroo Ikehira, Takayuki Obata, Mitsuru Tamura, Takuya Ueda: EVALUATION OF RELATIVE GLYCOSAMINOGLYCAN CONCENTRATION OF

REPARATIVE CARTILAGE WITH MAGNETIC RESONANCE IMAGING AFTER AUTOLOGOUS CHONDROCYTE IMPLANTATION. 8th World Congress of the OsteoArthritis Research Society International (Berlin・Germany)2003.10.12-15

H. 知的財産権の出願・登録状況

引き続き、関節軟骨の傷害度を定量的に画像として表示する、ソフトウェアの開発を行った。今年度は、アルゴリズムの検討と、システムの検討を行った。

1. 特許取得

無し

2. 実用新案登録

無し

3. その他

著作権登録

『MRI緩和イメージング表示解析システム T1-Wizard』P第8121号-1, 2003