

- 第6回日本骨粗鬆症学会, 2004, 11, 17-20 (大宮ソニックシティ, 埼玉).
50. 大庭伸介, 池田敏之, 亀倉暁, 釘宮典孝, 筑田博隆, 矢野文子, Alex C Lichtler, 小笠原徹, 星和人, 高戸毅, 中村耕三, 川口浩, 鄭雄一: BMP シグナルと Runx2 は骨芽細胞分化の最小かつ十分なシグナルユニットである. 第6回日本骨粗鬆症学会, 2004, 11, 17-20 (大宮ソニックシティ, 埼玉).
51. 山川聖史, 三枝正朋, 亀井大輔, 竹越唯衣, 植松智, 審良静男, 村上誠, 工藤一郎, 中村耕三, 川口浩: 膜型プロスタグランジンE<sub>2</sub> 合成酵素-1 (mPGES-1) の炎症性骨吸収治療のための重要な標的分子である. 第6回日本骨粗鬆症学会, 2004, 11, 17-20 (大宮ソニックシティ, 埼玉).
52. 山口雅之, 篠田裕介, 亀倉暁, 緒方直史, 中村耕三, 川口浩: 副甲状腺ホルモン (PTH 1-34) の骨同化作用において IGF-1/IRS-1 シグナルが重要である. 第6回日本骨粗鬆症学会, 2004, 11, 17-20 (大宮ソニックシティ, 埼玉).
53. 星和人, 劉光耀, 小笠原徹, 高橋嗣明, 浅輪幸世, 鄭雄一, 高戸毅, 中村耕三, 川口浩: 軟骨細胞の再分化を誘導する液性因子の組み合わせの最適化と相互作用機序の検討. 第18回日本軟骨代謝学会, 2005, 3.18-19 (大阪千里ライフサイエンスセンター, 大阪).
54. 亀倉暁, 星和人, 下赤隆, 筑田博隆, 鄭雄一, 小守壽文, 中村耕三, 川口浩: Runx2 による関節軟骨細胞の病的肥大化が変形性関節症の発症に重要である—新規 OA 誘発モデルを用いた Runx2 ヘテロ欠損マウスの解析—. 第18回日本軟骨代謝学会, 2005, 3.18-19 (大阪千里ライフサイエンスセンター, 大阪).
55. 矢野文子, 大庭伸介, 釘宮典孝, 小笠原徹, 池田敏之, 緒方直史, 高戸毅, 中村耕三, 川口浩, 鄭雄一: 古典的 Wnt シグナルは軟骨細胞への分化と肥大化を促進的に制御している. 第18回日本軟骨代謝学会, 2005, 3.18-19 (大阪千里ライフサイエンスセンター, 大阪).
56. 釘宮典孝, 筑田博隆, 池田敏之, 中村耕三, 鄭雄一, 川口浩: cGKII は Sox9 の核内移行を抑制することにより軟骨細胞の肥大分化における分子スイッチとして働く. 第18回日本軟骨代謝学会, 2005, 3.18-19 (大阪千里ライフサイエンスセンター, 大阪).
57. 瀬戸宏明, 亀倉暁, 三浦俊樹, 山本愛一郎, 筑田博隆, 緒方徹, 平岡久忠, 織田弘美, 中村耕三, 黒沢尚, 鄭雄一, 川口浩, 田中栄: 滑膜線維芽細胞での軟骨特異的遺伝子発現における Smad pathway と p38 pathway の役割について. 第18回日本軟骨代謝学会.
58. 西田圭一郎: メカニカルストレスと軟骨破壊について: 第2回 Japanese Conference of Bone and Joint Disease (2003年11月1日)
59. 依光正則, 西田圭一郎, 土井英之, 小見山貴充, 宮沢慎一, 井上一, 清水晃: IL-4 の関節軟骨破壊に対する保護効果 第48回日本リウマチ学会総会学術集会 (2004年4月15-17日)
60. 依光正則, 西田圭一郎, 土井英之, 小見山貴充, 宮澤慎一, 井上一, 清水晃: ラット膝 OA モデルに対する IL-4 の関節内投与 第9回日本関節症研究会 (2004年5月31日)
61. 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.
62. Nagura T, et al. Is high flexion following total knee arthroplasty safe? Evaluation of knee loads during flexion beyond 90 degrees. 50th Annual Meeting of Orthopedic Research Society, Poster No 1412, March 2004.
63. Kuroyanagi Y, et al. Knee flexion angle and joint loads in the patients with knee osteoarthritis during maximum flexion under weight bearing. 51th Annual Meeting of Orthopedic Research Society, Poster No 474, Feb 2005.
64. 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
65. 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術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
67. Watanabe A, Wada Y, Moriya H, Ikehira H, Obata T, Tamura M, Ueda T  
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
68. 渡辺淳也, 和田佑一, 池平博夫, 小島隆行, 植田琢也, 佐粧孝久, 川口佳邦, 高橋憲正, 守屋秀繁  
膝蓋骨脱臼に対する Elmslie-Trillat 法の関節軟骨に及ぼす影響。第 29 回日本膝関節学会 広島、2004/2/13-14
69. 渡辺淳也, 和田佑一, 池平博夫, 小島隆行, 植田琢也, 田村充, 守屋秀繁 MRI を用いた膝関節自家培養軟骨細胞移植術後の再生軟骨の評価 第3回日本再生医療学会総会(シンポジウム) 幕張、千葉 2004/3/23-25
70. Watanabe A, Wada Y, Ikehira H, Obata T, Ueda T, Moriya H: Glycosaminoglycan in reparative cartilage after autologous chondrocyte implantation : Evaluation with Gd-DTPA-enhanced magnetic resonance imaging  
11th ESSKA world congress on sports trauma Athens, Greece, 2004/5/5-8
71. Watanabe A, Wada Y, Obata T, Ueda T, Tamura M, Moriya H, Ikehira H. dGEMRIC for Evaluation of Reparative Cartilage after Autologous Chondrocytes Implantation 12th Scientific Meeting and Exhibition, International Society for Magnetic Resonance in Medicine Kyoto, Japan, 2004/5/15-21
72. 渡辺淳也, 和田佑一, 池平博夫, 小島隆行, 植田琢也, 田村充, 佐粧孝久, 守屋秀繁  
自家培養軟骨細胞移植術後の MRI 大腿骨骨髓内信号変化の検討 第 77 回日本整形外科学会学術集会神戸、2004/5/20-23
73. 渡辺淳也, 和田佑一, 池平博夫, 小島隆行, 植田琢也, 田村充, 佐粧孝久, 守屋秀繁  
Evaluation of reparative cartilage after autologous chondrocytes implantation with delayed gadolinium-enhanced MR imaging of cartilage  
第 77 回日本整形外科学会学術集会神戸、2004/5/20-23
74. Watanabe A, Wada Y, Obata T, Ueda T, Tamura M, Ikehira H, Moriya H  
Evaluation of reparative cartilage after autologous chondrocytes implantation with delayed gadolinium-enhanced MR imaging of cartilage Gent, Belgium, 2004/5/26-29
75. Watanabe A, Obata T, Ueda T, Tamura M, Wada Y, Moriya H, Ikehira H  
Evaluation of articular cartilage with delayed gadolinium-enhanced MR imaging of cartilage. The 5th Japan-France Workshop Chiba, Japan, 2004/6/1-4
76. Watanabe A, Wada Y, Sasho T, Ochiai N, Obata T, Ikehira H, Ueda T, Moriya H  
Time-course Evaluation of Reparative Cartilage with MR Imaging after Autologous Chondrocyte Implantation. Osteoarthritis research society international World Congress. Chicago, USA, 2004/12/2-5
77. 大浦敦裕, 川西誠 古川克子, 牛田多加志, 立石哲也: 間欠的静水圧負荷およびその周波数変化が軟骨細胞の遺伝子発現に与える効果 第 17 回バイオエンジニアリング講演会 (2005)
65. 川西誠, 牛田多加志, 田中栄, 織田弘美, 中村耕三, 福林徹, 古川克子, 立石哲也: 静水圧負荷下 3 次元培養による脱分化牛関節軟骨細胞の再分化促進効果, 第 4 回日本再生医療学会 (2005)
66. 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
67. 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.
68. 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 *ANKK1* 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
69. 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 髓内変化の拡大 □前

- 向き研究 - 第 32 回日本脊椎脊髄病学会, 2003. 4. 4-6 (福岡).
70. 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)
  71. 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).
  72. 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).
  73. 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).
  74. 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).
  75. 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).
  76. 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).
  77. 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).
  78. 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).
  79. 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 a3 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).
  80. 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).
  81. 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).
  82. 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).
  83. 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).
  84. Hiroataka Chikuda, Kazuto Hoshi, Takashi Shimoaka, Toru Akune, Hiroataka 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).
  85. 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 DDS 学会. 2003. 6. 19-20 (国立京都国際会館, 京都).
86. 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).
  87. 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).
  88. 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).
  89. 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).
  90. 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).
  91. 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).
  92. 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
  93. 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.
  94. 守屋秀繁: 第 46 回日本リウマチ学会総会・学術集会・ランチョンセミナー1 『変形性膝関節症に対する鏡視下手術の適応と術式』2002 年 4 月 22 日
  95. 守屋秀繁: 第 75 回日本整形外科学会学術集会 教育研修講演 『人工膝関節置換術後の合併症』2002 年 5 月 16 日
  96. 守屋秀繁: 第 15 回日本顎関節学会学術大会 『関節疾患の臨床における関節鏡視下手術の役割』2002 年 6 月 27 日
  97. 和田佑一 佐粒孝久 佐野栄 守屋秀繁: 第 75 回日本整形外科学会学術集会 ワークショップ 変形性膝関節症に対する鏡視下手術の意義 『重度の変形性膝関節症に対する鏡視下手術の意義』2002 年 5 月 19 日
  98. 守屋秀繁: 第 51 回 東日本整形災害外科学会 パネルディスカッション変形性膝関節症に対する鏡視下手術と保存療法 『変形性膝関節症に対する鏡視下後内側解離術』 2002 年 10 月 24 日
  99. 茂呂徹、高取吉雄、石原一彦、川口浩、金野智浩、松下富春、中村耕三: 生体膜類似

- 構造を持つ MPC の人工関節への応用に関する検討—MPC ポリマーはポリエチレンライナーの磨耗を低減する 第 75 回日本整形外科学会学術集会 2002.5.16-19 (岡山コンベンションセンター、岡山)
100. 川口浩：FGF-2:骨代謝疾患への関与と骨軟骨再生医療への応用 第 20 回日本骨代謝学会 (ランチョンセミナー) 2002. 7.25-27 (岡山コンベンションセンター、岡山)
  101. 茂呂徹、小笠原徹、下赤隆、築田博隆、亀倉暁、中村耕三、岡山博人、川口浩：軟骨細胞の分化において p38MAPK シグナルの下流に細胞周期関連分子 CDK6 の発現抑制が存在する (優秀演題賞受賞) 第 20 回日本骨代謝学会 2002. 7.25-27 (岡山コンベンションセンター、岡山)
  102. 山田高嗣、河野博隆、福田亨、吉村公宏、中村貴、佐藤隆史、粟飯原賢一、中道裕子、山本陽子、渡辺資之、亀倉暁、腰塚裕、池川志郎、川口浩、加藤茂明：Cystatin10 遺伝子欠損マウスは成長板近傍の海面骨形成の抑制を示す (優秀演題賞受賞) 第 20 回日本骨代謝学会 2002. 7.25-27 (岡山コンベンションセンター、岡山)
  103. 川口浩、鄭雄一、築田博隆、山田高嗣、腰塚裕、中村耕三：骨・関節再生への分子生物学的アプローチ 第 17 回日本整形外科学会基礎学術集会 (シンポジウム：骨関節疾患と再生医学) 2002.10.11-12 (青森市文化会館・ホテル青森、青森)
  104. 山田高嗣、川口浩、築田博隆、亀倉暁、腰塚裕、池川志郎、中村耕三、加藤茂明：Cystatin10 遺伝子欠損マウスの作出と骨軟骨組織の解析 第 17 回日本整形外科学会基礎学術集会 (シンポジウム：骨関節疾患と再生医学) 2002.10.11-12 (青森市文化会館・ホテル青森、青森)
  105. 築田博隆、鄭雄一、星和人、中村耕三、米田嘉重郎、川口浩：小人症モデルラット MRI の原因遺伝子 cGMP-dependent protein kinase 2 (cGK2) による軟骨細胞の増殖・分化のカップリングの制御 第 17 回日本整形外科学会基礎学術集会 2002.10.11-12 (青森市文化会館・ホテル青森、青森)
  106. 茂呂徹、小笠原徹、下赤隆、築田博隆、亀倉暁、中村耕三、岡山博人、川口浩：軟骨細胞の分化は細胞周期関連分子 CDK6 の発現抑制を介する 第 17 回日本整形外科学会基礎学術集会 2002.10.11-12 (青森市文化会館・ホテル青森、青森)
  107. 茂呂徹、中村耕三、高取吉雄、川口浩、石原一彦、金野智浩、丸山典夫、黒田大介、埜隆夫、松下富春：MPC ポリマー処理の磨耗特性に対する影響—人工関節への応用に関する検討— 第 24 回バイオマテリアル学会 2002.11.29-30 (東京)
  108. 川口浩：変形性関節症病態解明への新たな視点 厚生労働省科学研究公開シンポジウム 2003.1.28 (全社協・難尾ホール、東京)
  109. 築田博隆、星和人、下赤隆、阿久根徹、河野博隆、川野健一、中村耕三、鄭雄一、米田嘉重郎、川口浩：小人症モデルラット MRI の原因遺伝子 cGMP-dependent protein kinase 2 (cGK2) による軟骨細胞の増殖・分化のカップリング機構 第 16 回日本軟骨代謝学会 2003.3.7-8 (岡山コンベンションセンター、岡山)
  110. 下赤隆、小笠原徹、与那嶺享子、伊藤信行、近津大地、河野博隆、中村耕三、川口浩：Fibroblast growth factor (FGF)-18 の軟骨代謝調節作用—FGF-2 および FGF-10 との比較— 第 16 回日本軟骨代謝学会 2003.3.7-8 (岡山コンベンションセンター、岡山)
  111. 茂呂徹、小笠原徹、下赤隆、築田博隆、亀倉暁、中村耕三、岡山博人、川口浩：細胞周期関連分子 CDK6 による軟骨細胞分化調節機構—p38MAPK シグナルの下流に CDK6 の発現抑制が存在する— 第 16 回日本軟骨代謝学会 2003.3.7-8 (岡山コンベンションセンター、岡山)
  112. Toru Moro, Toru Ogasawara, Takashi Shimoaka, Hirotaka Chikuda, Satoshi Kamekura, Kozo Nakamura, Hiroto Okayama, and Hiroshi Kawaguchi: Chondrocyte differentiation is mediated by inhibition of cyclin-dependent kinase 6 expression as a downstream effector of p38 MAPK pathway 24<sup>th</sup> annual meeting of the American Society for Bone and Mineral Research 2002.9.20-24 (San

Antonio, Texas, USA)

113. Hirotaka Chikuda, Kazuto Hoshi, Takashi Shimoaka, Toru Akune, Hirotaka Kawano, Ken-ichi Kawano, Kozo Nakamura, Ung-il Chung, Kajuro Komeda, and Hiroshi Kawaguchi: Mutation in cGMP-dependent protein kinase 2 causes dwarfism in a novel rat mutant, MRI, though uncoupling of proliferation and differentiation of chondrocytes (Young Investigator Award) 24<sup>th</sup> annual meeting of the American Society for Bone and Mineral Research 2002. 9. 20-24 (San Antonio, Texas, USA)
114. 土井英之、西田圭一郎、清水 晃、中西 徹、滝川正春、井上 一：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とIL-4の影響。第16回日本軟骨代謝学会。
115. 西田圭一郎、中田英二、井上 一、清水 晃：変形性関節症の病態と軟骨細胞の変化。第17回日本整形外科学会基礎学術集会シンポジウム。
116. Nagura T et al. Muscle co-contraction increases the load on the PCL during deep knee flexion. ORS, Feb 2003.
117. 名倉武雄ほか、変形性膝関節症患者の動作解析、日常生活動作における膝負荷の特徴。第28回日本膝関節学会、2003年3月

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 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

研究成果の刊行に関する一覧表

【書籍】

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
西田圭一郎、松尾真嗣、井上一	変形性関節症軟骨にみられる軟骨破壊機序	越智隆弘、菊池臣一編	NEW MOOK 整形外科リウマチ類縁疾患.	金原出版	東京都	2004年	250-54
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	平澤泰介、井上一、高岡邦夫	整形外科の最新医療	先端医療技術研究所	東京都	2003年	81-87

【雑誌】

発表者氏名	論文タイトル	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Moriya H, Sasho T, Sano S, Wada Y.	Arthroscopic posteromedial release for osteoarthritic knees with flexion contracture.	<i>Arthroscopy</i>	20(10)	1030-9	2004
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.	<i>J Clin Invest</i>	113	718-726	2004
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 $\gamma$ insufficiency enhances osteogenesis through osteoblast formation from bone marrow progenitors.	<i>J Clin Invest</i>	113	846-855	2004

Shimoaka T, Kamekura S, Chikuda H, Hoshi K, Chung U, Akune T, Maruyama Z, Komori T, Matsumoto M, Ogawa W, Terauchi Y, Kadowaki T, <u>Nakamura K</u> , and Kawaguchi H	Impairment of bone healing by insulin receptor substrate-1 deficiency.	<i>J Biol Chem</i>	279	15314-15322	2004
Ogasawara T, Katagiri M, Yamamoto A, Hoshi K, Takato T, <u>Nakamura K</u> , Tanaka S, Okayama H, and Kawaguchi H	Osteoclast differentiation by RANKL requires NF- $\kappa$ B-mediated down-regulation of cyclin-dependent kinase 6 (Cdk6).	<i>J Bone Miner Res</i>	19	1128-1136	2004
Ogasawara T, Kawaguchi H, Jinno S, Hoshi K, Itaka K, Takato T, <u>Nakamura K</u> , and Okayama H	Bone morphogenetic protein 2-induced osteoblast differentiation requires smad-mediated down-regulation of cdk6.	<i>Mol Cell Biol</i>	24	6560-6568	2004
Yamada T, Kawano H, Sekine K, Matsumoto T, Fukuda T, Azuma Y, Itaka K, Chung UI, Chambon P, <u>Nakamura K</u> , Kato S, and Kawaguchi H	SRC-1 is necessary for skeletal responses to sex hormones in both males and females.	<i>J Bone Miner Res</i>	19	1452-1461	2004
Kamei D, Yamakawa K, Takegoshi Y, Mikami-Nakanishi M, Nakatani Y, Oh-ishi S, Yasui H, Azuma Y, Hirasawa N, Ohuchi K, Ohuchi K, Kawaguchi H, Ishikawa Y, Ishii T, Uematsu S, Akira S, Murakami M, and Kudo I	Reduced pain hypersensitivity and inflammation in mice lacking microsomal prostaglandin E synthase-1.	<i>J Biol Chem</i>	279	33684-33695	2004
Chikuda H, Kugimiya F, Hoshi K, Ikeda T, Ogasawara T, Shimoaka T, Kawano H, Kamekura S, Tsuchida A, Yokoi N, <u>Nakamura K</u> , Komeda K, Chung UI, and Kawaguchi H	Cyclic GMP-dependent protein kinase II is a molecular switch from proliferation to hypertrophic differentiation of chondrocytes.	<i>Genes Dev</i>	18	2418-2429	2004



Itaka K, Kanayama N, Nishiyama N, Jang WD, Yamasaki Y, <u>Nakamura K</u> , Kawaguchi H, and Kataoka K	Supramolecular nanocarrier of siRNA from PEG-based block cationer carrying diamine side-chain distinctive pKa directed to enhance intracellular gene silencing.	<i>J Am Chem Soc</i>	126	13612-13613	2004
Moro T, Takatori Y, Ishihara K, Konno T, Takigawa Y, Matsushita T, Chung UI, <u>Nakamura K</u> , and Kawaguchi H	Surface grafting of artificial joints with a biocompatible polymer for preventing periprosthetic osteolysis.	<i>Nature Mater</i>	3	829-836	2004
Ikeda T, Kamekura S, Mabuchi A, Kou I, Seki S, <u>Nakamura K</u> , Kawaguchi H, Ikegawa S, and Chung UI	Combination of SOX5, SOX6 and SOX9 (the SOX trio) provides signals sufficient for chondrogenesis.	<i>Arthritis Rheum</i>	50	3561-3573	2004
西田圭一郎, 依光正則, 土井英之, 井上 一, 清水 晃	軟骨細胞保護における IL-4 の役割	臨床免疫	41(5)	551-555	2004
西田圭一郎, 清水 晃, 依光正則, 土井英之, 相賀礼子, 井上 一	変形性関節症の発症機序-NO からみた OA 治療へのアプローチ.	リウマチ科	31(2)	199-205	2004
名倉武雄ほか	変形性膝関節症患者の動作解析	膝	28(1)	14-16	2003
畔柳裕二ほか	変形性膝関節症患者における歩行時の膝関節内反角度の変化 -動的 FTA 評価の試み	膝	29(2)	123-126	2004
牛田多加志	工学的アプローチによる細胞分化・組織形成のコントロール	日本再生医療学会雑誌	2巻5号	33-39	2003

Ikehira H, Watanabe A ほか	The development of three-dimensional T <sub>1</sub> image calculation program in proportion to the DICOM data of any marketing clinical MRI systems	<i>Magnetic Resonance Imaging</i>	22	595-597	2004
佐粧孝久, 守屋秀繁ほか	変形性膝関節症に対する鏡視下手術－鏡視下後内側解離術の適応と成績－	リウマチ科	30巻2号	120-128	2003
Hoshi K, Nakamura K ほか	Deficiency of insulin receptor substrate-1 impairs skeletal growth through early closure of epiphyseal cartilage	<i>J Bone Miner Res</i>	19	214-223	2004
Itaka K, Nakamura K ほか	In situ single cell observation by fluorescence resonance energy transfer reveals fast intra-cytoplasmic delivery and easy release of plasmid dna complexed with linear polyethylemine	<i>J Gene Med</i>	6	76-84	2004
Matsubara T, Tsutsumi S, ほか	A new technique to expand human mesenchymal stem cells using basement membrane extracellular matrix	<i>Biochem Biophys Res Commun</i>	313	503-508	2004
Koshizuka Y, Nakamura K ほか	Cystatin 10, a novel chondrocyte-specific protein, may promote the last steps of the chondrocyte differentiation pathway	<i>J Biol Chem</i>	278	48259-48266	2003

Akiyama T, Nakamura K ほか	Regulation of osteoclast apoptosis by ubiquitylation of proapoptotic BH3-only Bcl-2 family member Bim	<i>EMBO J</i>	22	6653-6664	2003
Saegusa M, Nakamura K ほか	Contribution of membrane-associated prostaglandin E <sub>2</sub> synthase (mPGES) to bone resorption	<i>J Cell Physiol</i>	197	348-356	2003
Itaka K, Nakamura K ほか	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	<i>Biomaterials</i>	24	4495-4506	2003
Kawano H, Nakamura K ほか	Suppressive function of androgen receptor in bone resorption	<i>Proc Natl Acad Sci USA</i>	100	9416-9421	2003
Seichi A, Nakamura K ほか	Image-guided resection of the thoracic ossification of the ligament flavum	<i>J Neurosurg</i>	99	60-63	2003

Ogihara S, Nakamura K ほか	Concurrent spinal schwannomas and meningiomas. Case illustration	<i>J Neurosurg</i>	98	300	2003
Seichi A, Nakamura K ほか	Image-guided surgery for cervical disorders in rheumatoid arthritis	<i>Mod Rheumatol</i>	12	329-332	2002
Ogata N, Nakamura K ほか	Association of <i>Klotho</i> gene polymorphism with bone density and spondylosis of the lumber spine in postmenopausal women	<i>Bone</i>	31	37-42	2002
Akune T, Nakamura K ほか	Insulin receptor substrate-2 maintains predominance of anabolic function over catabolic function of osteoblasts.	<i>J Cell Biol</i>	159	147-156	2002
Shimoaka T, Nakamura K ほか	Regulation of osteoblast, chondrocyte, and osteoclast functions by fibroblast growth factor (FGF)-18 in comparison with FGF-2 and FGF-10.	<i>J Biol Chem</i>	277	7493-7500	2002
Ikeda T, Nakamura K ほか	Identification and characterization of the human long form of Sox5 (L-Sox5) gene	<i>Gene</i>	298	59-68	2002
名倉武雄ほか	深屈曲動作における PCL の重要性	膝	27	87-89	2003

Ishii Y, Ushida T ほか	Effects of different exposures of hyperbaric oxygen on ligament healing in rats	<i>J Orthop Res</i>	20	353-3 56	2002
Ochi K, Ushida T ほか	Use of Isolated Mature Osteoblasts in Abundance Acts as Disired Shaped Bone Regeneration in Combination with a Modified Poly-DL-Lactic-Co-Glycolic Acid (PLGA)-Collagen Sponge	<i>J Cell Physiol</i>	194	45-53	2002
Mizuno S, Ushida T ほか	Hydrostatic Fluid Pressure Enhances Matrix Synthesis and Accumulation by Bovine Chondrocytes in Three-dimentional Culture	<i>J Cell Physiol</i>	193	319-3 27	2002
K. S. Furukawa, T. Ushida ほか	Hybrid of gel-cultured smooth muscle cells with PLLA sponge as a scaffold towards blood vessel regeneration	<i>Cell Transplantati on</i>	11 (5)	475-4 80	2002
T. Ushida ほか	Three dimentional seeding of chondrocytes encapsulated in collagen gel into PLLA scaffolds	<i>Cell Transplantati on</i>	11 (5)	489-4 94	2002
Guoping Chen, T. Ushida ほか	Scaffold Design for Tissue Engineering	<i>Macromole. Biosci.</i>	2	67-77	2002

【著作権】

登録者	ソフトウェア名	ソフトウェア内容	登録年
株式会社 ITTC、放射線医学総合研究所	T <sub>1</sub> -Wizard	T <sub>1</sub> 画像処理ソフトウェア	2003年

[6] 最近のトピックス

3

# 変形性関節症軟骨にみられる 関節破壊機序

■サマリー

西田 圭一郎\* 松尾 真嗣\*\* 井上 一\*\*\*

変形性関節症(OA)では関節局所で種々のサイトカインの産生亢進が起こっており、IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$ は滑膜細胞、軟骨細胞、線維芽細胞などからのMMPs(matrix metalloproteinases)の産生を亢進させ、組織破壊へと導く。一酸化窒素(nitric oxide, NO)は生体防衛的にも障害性にも働く両刃の剣であり、中枢神経系、心血管系の恒常性維持に関わる一方で、炎症性関節においては過剰に産生され、軟骨細胞をアポトーシスへと導くほか、軟骨基質中のフィブロネクチンへの接着阻害や細胞表面上のメカノレセプターである、5 $\alpha$ 1インテグリン、細胞内骨格であるアクチンフィラメントを介する細胞内シグナル伝達の阻害によって、II型コラーゲン、プロテオグリカン産生を抑制する。さらに、IL-1によるMMPの誘導を亢進させたの、MMPの活性化にも働くほか、反応生成物であるペルオキシナイトライドはヒアルロン酸の変性やTIMP(tissue inhibitor of metalloproteinase)-1の不活性化することでも軟骨変性に関与することも分かってきた。本稿ではOA軟骨破壊機序におけるNOの役割、およびこれをターゲットとした新治療法について解説した。

## I. 変形性関節症(OA)の病態

関節軟骨は軟骨細胞とそれを取り囲む細胞外マトリックスからなり、優れた荷重緩衝機構をもつと同時に、関節潤滑に寄与する。OAは早期には軟骨変性によりこれら関節軟骨の特性が失われた状態であり、関節潤滑が障害され、プロテオグリカン(PG)の破壊が生じると、関節軟骨の水分保持力が減少し、関節軟骨独特のクリープ変形も妨げられてさらに粘弾性を失う。一方、関節軟骨由来のII型コラーゲン、PG、フィブロネクチンなどの分解産物は滑膜組織を刺激して二次性滑膜炎を惹起し、産生されるサイトカインやプロスタグランジンなどの化学伝達物質により疼痛、発熱、腫脹、浮腫といった炎症症状が招来される。度重なる異常な力学的負荷により関節軟骨はさらに変性・摩耗をきたし(関節裂隙の狭小化)、関節辺縁の滑膜組織あるいは骨膜は刺激されて骨棘形成が生じる。これらOA特有の病態は近年になって分子レベルで解明が進んでいるが、関節軟骨破壊機序の重要な因子として特にNOが注目されており(図1)、対応策も模索され始めている<sup>1)</sup>。

## II. 関節炎局所におけるNO産生

関節リウマチ(RA)やOA関節液中では正常関節液に比して数倍~数十倍のNOが検出されること<sup>2)</sup>、滑膜細胞、軟骨細胞が炎症時に誘導型NO合成酵素(iNOS)を発現すること<sup>3)</sup>が報告され、関節炎局所においてNO産生が亢進していることが分かっ

\* Keiichiro NISHIDA 岡山大学大学院医学総合研究科 (整形外科)  
\*\* Masatsugu MATSUO 同上  
\*\*\* Hajime INOUE 同 教授

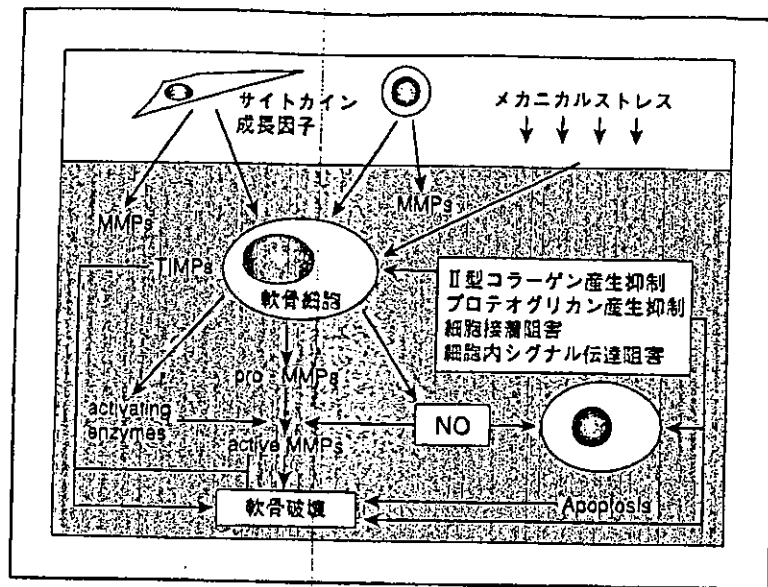


図 1. OA 軟骨破壊における NO の関与

ている。さらに、NOS 阻害剤が関節炎モデル動物の関節炎症を有為に抑制したことから<sup>4)</sup>、関節炎における炎症増幅因子としての NO が注目されるようになった。培養軟骨細胞では、IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-7, IL-18 といったサイトカインやリポ多糖類 (lipopolysaccharide : LPS) によって誘導型 NO 合成酵素 (iNOS) の発現が亢進する<sup>5)</sup>。部位別には表層の軟骨細胞は深層に比して IL-1 刺激に対する反応性が高い<sup>6)</sup>。一方で、IL-1 receptor antagonist (IL-1ra) の発現は NOS 阻害剤である L-NMA 処理により増加し、また NO 産生の促進に伴い IL-1ra 産生は抑制されることより、NO とサイトカインの間には負の調節機構も存在する<sup>7)</sup>。また、軟骨にかかる異常な力学的負荷も iNOS の発現を誘導するという (Lotz M, 私信)。これらは、いずれも活性酸素を主たるターゲットとした生体防御反応の一つと考えるのが妥当であろうが、いったん iNOS 蛋白が産生されると、持続的に高濃度の NO が合成され、逆に組織破壊の原因の一つとなる。

### III. NO による軟骨細胞のアポトーシス

#### 誘導

その後の研究で、NO が軟骨細胞のアポトーシス誘導因子として重要であることが報告されたことから<sup>8)</sup>、NO は滑膜炎を増強するばかりでなく、軟骨破壊においてもその唯一の基質産生細胞である軟骨細胞を障害して関節破壊に関与することが強く示唆されるようになった。無血管の成熟関節軟骨はその再生能力に乏しく、ひいては軟骨内基質産生能の低下を招来し、さらに荷重負荷も増大して軟骨破壊が進展すると考えられる。Blanco ら<sup>9)</sup>は、IL-1 刺激により軟骨細胞は NO を産生し、その結果細胞増殖は抑制されること、培養軟骨細胞に NO を投与するとアポトーシスが誘導されるが、oxygen radical のみではアポトーシスを誘導できないことを示したが、一方で内因性の NO のみではアポトーシスは誘導できないことも分かっている。過剰に産生された NO は、NO そのものによる直接的作用に加えて、パーオキシナイトライト (ONOOH) などの NO 由来の反応性窒素酸化物の生成を経て、NO そのものには認められない多彩な病態生理活性を発揮する。



## [6] 最近のトピックス

ONOOH は強力な酸化剤で、SH 基の酸化や脂質の過酸化などを引き起こして細胞に傷害を与えるとともに、DNA とも反応し傷害を与え、細胞傷害やアポトーシスをもたらすことが知られている。

### IV. 軟骨組織での NO 産生と軟骨細胞死

Hashimoto ら<sup>9)</sup>は前十字靭帯切離による実験的 OA モデルにおいて TUNEL 陽性細胞率と NO 産生が相関することを報告している。筆者らも特にヒト OA の初期-早期においては関節破壊の進行と nitrotyrosine 陽性率が強く相関することを見出している<sup>10)</sup>。電子顕微鏡による観察でも、細胞の縮小、核の濃縮像を伴うアポトーシスが観察される一方、死細胞の断片やアポトーシス小体もマトリックス内に認められる。他方、軟骨基質内に貪食されることなく残存する基質小胞やアポトーシス小体は、特に深層における軟骨石灰化に関与したり<sup>11)</sup>、基質破壊の際に関節腔内に遊離して二次性滑膜炎の病態に関与するものと思われるが、アポトーシス小体の関節内注入による滑膜炎惹起を試みた研究はまだない。

アポトーシス特有の形態変化をもたらす実行部隊はカスプースファミリーとされる。核クロマチンの濃縮、DNA の断片化はそれぞれ活性化 caspase 3 の核ラミンの切断、DNase の活性化により生じ、caspase 3 はさらに細胞内アクチンフィラメントの分解により細胞膜の出芽(budding)によるアポトーシス小体の形成に働く。筆者らは最近組織学的 OA グレード、ニトロチロシン陽性率、TUNEL 陽性率は活性化 caspase-3 陽性率と強く相関することを見出した<sup>12)</sup>。

### V. NO 以外のアポトーシス誘導機構

軟骨細胞におけるアポトーシス誘導因子としては NO などのラジカルによる直接の DNA 障害以外に、①細胞外基質との接着阻害、②細胞間シグナル伝達阻害、③ bcl-2 などのアポトーシス抑制因子の除去もしくは相対的低下、④ Fas リガンド、TNF ファミリーなどによる death domain の刺激、が推

測されている。細胞外基質との接着阻害によるアポトーシスは特に anoikisc<sup>13)</sup>と呼ばれ、癌抑制遺伝子 p53 依存性経路の関与や ROS (reactive oxygen speices) による制御が示唆されている。また、Kim ら<sup>14)</sup>は OA 軟骨組織においては、正常軟骨に比して bax 発現率に差を認めない一方で bcl-2 の発現が減少し、Fas 陽性細胞率が増加していることを免疫染色で示している。さらに、従来指摘されてきた通り、OA 病態においても MMPs が各種コラーゲン、プロテオグリカンやフィブロネクチン、ラミニンといった糖蛋白を分解することで軟骨細胞の基質への接着を阻害していることは間違いなく、細胞死の直接的な引き金になっていると考えられる。

### VI. 軟骨破壊におけるアポトーシス以外の NO の作用

この他、OA 病態における NO の異化(catabolic)な作用としてはアポトーシスの誘導以外にも、① II 型コラーゲン、プロテオグリカン産生抑制、② MMPs の活性化、③  $\beta$ 1 インテグリンを介した細胞内シグナル伝達の阻害、などが明らかとなっている。ウサギの培養軟骨細胞において NOS 阻害剤である NG-monomethyl-L-arginine (L-NMA) は IL-1 誘導による NO 産生亢進およびプロテオグリカン産生抑制を阻害する<sup>15)</sup>。さらに、培養ヒト関節軟骨においても、NO 供与体である S-nitroso-N-acetyl-DL-penicillamine (SNAP) および IL-1, TNF, LPS は MMP を活性化すること、その作用は NOS 阻害剤により抑制されることなどが報告されている<sup>16)</sup>。また、ONOOH も細胞外マトリックスの改変において重要な役割を担っている matrix metalloproteinase (MMP) やプロスタグランジン (prostaglandin) 合成系の酵素である COX (cyclooxygenase) を活性化することにより、炎症反応を増強することが指摘されている。

### VII. NO 産生阻害による OA 治療の試み

NO は生体防御的にも、障害性にも働き得る両刃

の剣であるが、OAの軟骨破壊に対してもNOSの阻害によるNO産生抑制の効果が報告されている。Pelletierら<sup>17)</sup>はイヌのACL切離OAモデルにiNOSの選択的阻害剤であるN-iminoethyl-L-lysine(L-NIL)を投与し、軟骨変性、骨棘形成が有意に抑制されたと述べている。組織学的な検討でもL-NIL投与群においてiNOS, nitrotyrosine, COX-2, MMP-1, 3の発現率が減少することを示している<sup>18)</sup>。さらに、同様の系において軟骨細胞のアポトーシスとcaspase-3の発現率もNOS阻害剤により低下すると報告している<sup>19)</sup>。一方、現在臨床の場で頻用されているヒアルロン酸製剤は軟骨細胞のアポトーシスには抑制的に働くが、軟骨細胞のNO産生には影響を与えないことも報告されており<sup>20)</sup>、OAに対するiNOS選択的阻害剤との併用療法にも期待がもたれる。

### おわりに

OAにおける関節軟骨破壊機構には種々の因子が複雑に作用し、その全貌は未だ明らかではないが、NOによる関節軟骨破壊のメカニズムが徐々に明らかとなってきた。今後は転写レベルでの制御も含めたNO産生調節および併用療法の選択が新治療法開発のカギになっていくと考えられる。

### 文献

- 1) Nishida K, Doi T, Inoue H : The role of nitric oxide in arthritic joint-a therapeutic target? Review. *Modern Rheumatol*, 10 : 63-67, 2000.
- 2) Farrel AJ, Blake DR, Palmer MJ, et al : Increased concentrations of nitrite in synovial fluid and serum samples suggest increased nitric oxide synthesis in rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis*, 51 : 1219-1222, 1992.
- 3) Sakurai H, Kohsaka H, Liu MF, et al : Nitric oxide production and inducible nitric oxide synthase expression in inflammatory arthritides. *J Clin Invest*, 96 : 2357-2363, 1995.
- 4) McCartney-Francic N, Allen JB, Mizel DE, et al : Suppression of arthritis by an inhibitor of

nitric oxide synthase. *J Exp Med*, 178 : 749-754, 1993.

- 5) Sasaki K, Hattori T, Fujisawa T, et al : Nitric oxide mediates interleukin-1-induced gene expression of matrix metalloproteinases and basic fibroblast growth factor in cultured rabbit articular chondrocyte. *J Biochem(Tokyo)*, 123 : 431-439, 1998.
- 6) Fukuda K, Kumano F, Takayama M, et al : Zonal differences in nitric oxide synthesis by bovine chondrocytes exposed to interleukin-1. *Inflamm Res*, 44 : 434-437, 1995.
- 7) Pelletier JP, Mineau F, Ranger P, et al : The increased synthesis of inducible nitric oxide inhibits IL-1ra synthesis by human articular chondrocytes : Possible role in osteoarthritic cartilage degradation. *Osteoarthritis Cartilage*, 4 : 77-84, 1996.
- 8) Blanco FJ, Ochs RL, Schwarz H : et al. Chondrocyte apoptosis induced by nitric oxide. *Am J Pathol*, 146 : 75-85, 1995.
- 9) Hashimoto S, Takahashi K, Amiel D, et al : Chondrocyte apoptosis and nitric oxide production during experimentally induced osteoarthritis. *Arthritis Rheum*, 41 : 1266-1274, 1998.
- 10) 西田圭一郎, 井上 一, 松尾真嗣, 他 : 軟骨破壊における一酸化窒素の役割. 最新医学別冊, リウマチ 2000 : 88-99, 2000.
- 11) KourtJB, Aguilera JM, Reyes J, et al : Apoptotic chondrocytes from osteoarthritic human articular cartilage and abnormal calcification of subchondral bone. *J Rheumatol*, 27 : 1005-1019, 2000.
- 12) Matsuo M, Nishida K, Yoshida A, et al : Expression of caspase-3 and-9 relevant to cartilage destruction and chondrocyte apoptosis in human osteoarthritic cartilage. *Acta Med Okayama* 55 : 333-340, 2001.
- 13) Frisch SM : Integrins and anoikis. *Curr Opin Cell Biol*, 9 : 701-706, 1997.
- 14) Kim HA, Lee YJ, Seong S, et al : Apoptotic chondrocyte death in human osteoarthritis. *J Rheumatol*, 27 : 455-462, 2000.
- 15) Taskiran D, Stefanovic-Racic M, Georgescu H, et al : Nitric oxide mediates suppression of cartilage proteoglycan synthesis by interleukin-1. *Biochem Biophys Res Commun*, 200 : 142-148,

[6] 最近のトピックス

- 1994.
- 16) Murrell GA, Jang D, Williams RJ: Nitric oxide activates metalloprotease enzymes in articular cartilage. *Biochem Biophys Res Commun*, 206 : 15-21, 1995.
- 17) Pelletier JP, Javanovic D, Fernandes JC, et al : Reduced progression of experimental osteoarthritis in vivo by selective inhibition of inducible nitric oxide synthase. *Arthritis Rheum*, 41 : 1275-1286, 1998.
- 18) Pelletier JP, Lascau-Coman V, Javanovic D, et al : Selective inhibition of inducible nitric oxide synthase in experimental osteoarthritis is associated with reduction in tissue levels of catabolic factors. *J Rheumatol*, 26 : 2002-2014, 1999.
- 19) Pelletier JP, Javanovic D, Lascau-Coman V, et al : Selective inhibition of inducible nitric oxide synthase reduces progression of experimental osteoarthritis in vivo. Possible link with the reduction in chondrocyte apoptosis and caspase 3 level. *Arthritis Rheum*, 43 : 1290-1299, 2000.
- 20) Takahashi K, Hashimoto S, Kubo T : Effect of chondrocyte apoptosis and nitric oxide production in experimentally induced osteoarthritis. *J Rheumatol*, 27 : 1713-1720, 2000.
-

## 2. 変形性関節症における軟骨破壊と NO

### 2.1 はじめに

変形性関節症 (OA) は日常の整形外科診療の中でも最も頻繁にみられる疾患の一つであり、近年の人口の高齢化に伴う患者数の増加への対策は社会的・経済的な重要課題となってきた。人工関節の進歩と普及により、末期関節症に至った膝あるいは股関節 OA に対しては治療方針がほぼ確立した感があるが、その乱用は慎むべきである。一方で早期 OA では軟骨の変性・破壊をいかに診断し、また予防していくか、さらには再生医療を OA 治療にどうからめていくかなど、なお問題点は多く、軟骨の変性・破壊機構を解明し、軟骨代謝をさらに理解することによる OA の診断、予防法あるいは疾患修飾性 OA 治療薬 (DMOAD) の開発を目指して世界中で精力的な研究が行われている。本稿では、新規 DMOAD 開発への手がかりの一つとして、ガス状情報伝達物質 (ガスメディエーター)、特に一酸化窒素 (nitric oxide, NO) の軟骨破壊に果たす役割について概説する。

### 2.2 関節炎と炎症メディエーター

関節炎症においては、種々の炎症性メディエーターが滑膜線維芽細胞の増殖、活性化、炎症性細胞浸潤、血管新生、軟骨破壊などの多彩な病態形成の引き金となっている。特に TNF- $\alpha$ 、IL-1 に代表される炎症性サイトカインはその中心的役割を果たしており、他のサイトカイン、増殖因子、ケモカインやプロスタグランジン (PG) などの上流に位置してその活性化、産生亢進を促す。軟骨変性が始まると、サイトカインの関節局所での産生亢進が生じ、IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  は滑膜細胞、軟骨細胞、線維芽細胞などからの MMPs (matrix metalloproteinases) の産生を亢進させ、基質中の糖蛋白やグロテオグリカン、II型、IX型、XI型といったコラーゲンを分解し、軟骨基質破壊を進展させる。また、クラスター形成を示す関節面に近い軟骨細胞や、深層の軟骨細胞は VEGF (vascular endothelial growth factor) を発現し、血管新生や骨髄側からの血管侵入にも関与している。一方で軟骨防御機構も働いており、bFGF (basic fibroblast growth factor) は軟骨細胞の増殖、プロテオグリカン合成を促進し、TGF- $\beta$  は MMPs の発現を抑制する一方で TIMPs (tissue inhibitors of metalloproteinases) の発現を促進している。こ

ういったサイトカインや成長因子による細胞外基質の合成と変性の不均衡が、軟骨破壊に深く関与しているといわれる。

一方、ガスメディエーターはサイトカインにみられるような受容体を介する伝達とは異なり、拡散によって周囲の細胞に到達し、膜透過性に細胞に作用して、さまざまな効果を発揮する。なかでも活性酸素 (active oxygen)、NO、一酸化炭素 (carbon monoxide, CO) は生理的な状態では細胞内情報伝達シグナルや、血管系・中枢神経系の情報伝達物質としての重要な役割を担っている。一方で個々の活性酸素種 (reactive oxygen species, ROS) のうち、 $O_2^-$  (スーパーオキシドラジカル) や  $\cdot OH$  (ヒドロキシラジカル)、および NO  $\cdot$  (NO ラジカル) などのフリーラジカルは、化学的に不安定で、強力に反応性を示す重要な生理活性物質である一方で、炎症下にサイトカイン刺激によって過剰に産生された場合には組織細胞傷害性に働く。

### 2.3 フリーラジカルと軟骨破壊

軟骨細胞は IL-1 刺激により、 $H_2O_2$  と  $O_2^-$  を産生する。関節液の主成分であるヒアルロン酸が  $O_2^-$  あるいは  $\cdot OH$  で小分子化されると、特有の粘度を失う。また、 $O_2^-$  は軟骨組織中の II 型コラーゲンやプロテオグリカンの変性を引き起こす。in vitro で軟骨細胞は IFN- $\gamma$  や TNF- $\alpha$  による刺激で  $H_2O_2$  を多量に生ずる。In vitro では少量の  $H_2O_2$  は軟骨細胞のアポトーシスを、多量ではネクローシスを誘導することも知られており、軟骨組織の唯一の基質産生細胞である軟骨細胞の障害は、ひいては軟骨変性を導く。Mendes らによると、軟骨細胞を  $H_2O_2$  で処理しても、NF- $\kappa B$  活性化および誘導型 NO 合成酵素 (iNOS) 発現は誘導されない。Superoxide dismutase (SOD) は  $O_2^-$  を過酸化水素と酸素に中和して不均一化させる酵素であり、生体防御的に働く代表的  $O_2^-$  スカベンジャー (除去剤) であるが、SOD は軟骨細胞において IL-1 による I- $\kappa B$  の分解および iNOS 発現を抑制する。つまり、軟骨細胞では  $H_2O_2$  でなく  $O_2^-$  が IL-1 を介した NF- $\kappa B$  活性化と iNOS 発現の誘導に関わっていると考えられる。遺伝子組み換え技術により製造されたヒト由来の SOD (TSA-234) は、イヌ尿酸塩膝関節炎、ウサギカラニゲン膝関節炎およびラットアジュバント関節炎などの実験的モデルに対