

## II. 分担研究報告

変形性関節症の大規模臨床統合データベースの確立（1）：ROAD プロジェクト

分担研究者

吉村典子（東京大学大学院医学系研究科関節疾患総合研究講座 客員助教授）

研究協力者

馬淵昭彦（東京大学大学院医学系研究科臨床運動器医学講座 客員助教授）

研究要旨：東京都板橋（都市部）および和歌山県日高川町（山村部）に地域在住中高年男女総数 2,208 人からなるコホートを設定し、ベースライン調査として問診票調査、X線撮影、および整形外科医師による診察を行い、一般住民におけるX線上の変形性膝関節症および変形性腰椎症の有病率を推定した。ベースライン調査総参加者 2,208 人のうち、50 歳以上の男女 1,885 人について、X線所見で Kellgren-Lawrence 分類 2 度以上のものを変形性膝関節症と定義すると、50 歳以上における有病率は男性 53.6%、女性 74.2% であった。同様の定義を腰椎所見にあてはめると、変形性腰椎症の有病率は男性 83.3%、女性 74.4% であった。X線上変形性膝関節症の所見を認めるものの中で膝痛を自覚するものの割合は、男性では 26.3%（総数の 14.1%）、女性では 41.4%（総数の 30.7%）となった。同様に変形性腰椎症の所見を認めるものの中で腰痛の自覚するものの割合は、30.9%（総数の 23.8%）、女性では 31.5%（総数の 17.5%）となった。このことからX線で変形性関節症の所見を認めるもののうち 3 割前後が痛みを自覚していることがわかった。

A. 研究目的

変形性関節症（osteoarthritis：OA）は、高齢者の日常生活動作（activity of daily living：ADL）や生活の質（quality of life：QOL）を低下させ、健康寿命を短縮させる重大な生活習慣病である。しかしながら OA の予防を目的として疫学的アプローチを行った研究は現在までほとんど行われていない。そのため、その発生数やその年齢別頻度、性差、地域差など疾病予防のために必要な基本的疫学指標が得られておらず、発症の危険因子についてもほとんどわかっていないのが現状である。

著者らは 2005 年より特性の異なる地域（都市部、山村部、漁村部）に一般住民コホートを設定し、前向きに追跡をおこなうべくベースライン調査を行ってきた。さらに一般住民データと平行して OA 患者を対象としたデータベースの作成にも着手し、それらを統合した大規模 OA データベースの構築とこれを用いたゲノム疫学的研究

（Research on Osteoarthritis Against Disability：ROAD プロジェクト）を開始している。昨年度は、都市部在住の 60 歳以上の高齢者において、約 7 割が X 線上膝 OA をみとめており、その頻度は女性に多いことを報告した。本年度は東京都板橋区（都市部）に加えて和歌山県日高川町（山村部）においてもベースライン調査が完了したため、これら二つの地域をあわせて総参加者数 2,208 人の中から 50 歳以上の住民の結果を抽

出、解析し、OA の有病率を求め、わが国における OA 患者数の推定を行った。

B. 研究方法

東京都板橋区および和歌山県山村部に位置する日高川町において、骨関節疾患予防検診として 40 歳以上の住民を対象に問診票調査、運動機能調査、および膝、腰椎 X 線撮影を行った（ベースライン調査）。問診票は、腰痛、職業歴、家族歴、既往歴、嗜好品（たばこ、コーヒー、食事、飲酒）、身体状況、服薬、栄養調査、関節障害、股関節の状況、介護状況、精神状況、認知機能、QOL（SF-8、EQ5D）、痛み（WOMAC）、転倒など約 400 項目からなる。X 線画像は両膝関節および腰椎 L1/2 から L5/S の 5 椎間における変形の重症度を Kellgren/Lawrence（KL）分類 1）（図 1）を用いて整形外科医が読影し、grade 2 以上を OA とした。さらに整形外科医が診察した際に、現在膝痛および腰痛を自覚しているかどうかを直接問診し、自覚症状の有無を判定した。

統計解析には logistic regression analysis を用い、年齢を補正した上で、OA の有病率に影響する因子および痛みとの関連について解析した。

C. 研究結果

総参加者 2,208 人のうち、50 歳以上の住人 1,885 人（男性 672 人、女性 1213 人、平均年齢

73.5歳) (都市部コホート 1,030人:男性 355人、女性 675人;平均年齢 76.9歳、山村部コホート 855人:男性 317人、女性 538人;平均年齢 69.3歳) を解析対象とした。

X線診断上 KL grade 2以上を OA と定義した場合の膝 OA の有病率は、総数で見ると男性 53.6%、女性 74.2% (都市部男性 49.7%、都市部女性 75.8%、山村部男性 57.7%、山村部女性 73.1%) であった。一方、腰椎 OA では、総数で見ると男性 83.3%、女性 74.4% (都市部男性 83.9%、都市部女性 77.0%、山村部男性 77.0%、山村部女性 55.6%) であった (図 1)。

またこれらのなかで痛みを自覚しているものの割合をみると膝では男性 26.3%、女性 41.4% (都市部男性 24.3%、都市部女性 38.9%、山村部男性 30.8%、山村部女性 43.3%)、腰では男性 26.0%、女性 36.4% (都市部男性 24.6%、都市部女性 40.0%、山村部男性 30.9%、山村部女性 31.5%) であった。

OA 有病率に影響する要因として、性別 (男女) および居住地区 (都市部、山村) との関連を年齢を調整して logistic regression analysis でみたところ、膝 OA では女性 (OR=2.80, 95% CI=2.27-3.44)、および山村部在住 (OR=1.77, 95% CI=1.39-2.25) のオッズ比が有意に高かったが、腰椎 OA では男性 (OR=2.06, 95% CI=1.63-2.61) および都市部在住 (OR=1.43, 95% CI=1.13-1.83) が有意に高く、膝とは逆の結果が得られた。

KL grade と痛みとの関連では、膝の場合 grade 0, 1 を基準とした grade 2 および grade 3, 4 における膝痛の OR はそれぞれ都市部男性 1.2 (95% CI:0.6-2.5)、10.1 (95% CI:2.2-46.0)、都市部女性 1.6 (95% CI:0.99-2.69)、3.5 (95% CI:1.67-7.18)、山村部男性 2.9 (95% CI:1.44-5.72)、11.6 (95% CI:4.55-24.9)、山村部女性 2.9 (95% CI:1.71-5.06)、12.3 (95% CI:6.47-23.4) であった。腰椎においては、都市部女性では L1/2 を除く全ての椎間で KL grade 3, 4 が腰痛と有意に相関していたが (OR: 1.8-2.8)、都市部男性では有意な相関が見られたのは L3/4 のみであった (OR: 2.1)。また、山村部女性では、L3/4, 4/5 を除くすべての椎間で腰痛と有意に相関していたが (OR: 2.0-4.3)、山村部男性ではどの椎間とも腰痛との有意な相関はなかった。

#### D. 考察

膝および腰椎 OA の X 線診断による有病率は、いずれも非常に高いものであった。この結果を、平成 16 年度の人口構成にあてはめ

てみると、膝では 50 歳以上の男性 1240 万人、女性 1840 万人、計 3080 万人が、腰椎では男性 1770 万人、女性 1530 万人、計 3300 万人が X 線上 OA 変化をきたしていることになる。で痛みを自覚しているものに限定しても、膝で 50 歳以上の男性 330 万人、女性 760 万人、計 1090 万人が、腰椎では男性 460 万人、女性 560 万人、計 1020 万人が OA であると推定され、これは従来の推定よりもはるかに高い数字であることがわかった。

一方、有病率に影響する因子を性別と居住地で見ると、膝と腰椎とで逆の結果となった。このことは膝 OA と腰椎 OA の発症や進展に影響する背景要因が異なることを示唆するものであると考えられる。

OA 重症度と痛みの関連においては、膝では、KL grade 3, 4 において膝痛のリスクが男女とも高値であり、X 線上の OA 分類は重症度の高いものにおいては OA の主症状である痛みを反映していると考えられた。腰椎では男性よりも女性で OA 変化が腰痛に強く関与していたが、その程度は膝と比較すると軽度であり、痛みへの影響の程度も膝 OA と腰椎 OA では大きく異なっていることが明らかになった。

本年度はさらに、漁村型コホートのベースライン調査がすでに進捗中であり、今後同コホートのデータについても解析を加えると同時に都市部、山村部、漁村部全てのコホートのベースライン調査が終了した時点で、詳細な臨床情報を網羅したデータベースを用いて OA の危険因子について解析を行う予定である。

#### E. 結論

都市部在住および山村部在住 一般在宅高齢者を対象としてコホートを設定し、ベースライン調査の結果を報告した。その結果、膝および腰椎 OA において有病率が極めて高いことが明らかとなった。また、両 OA の有病率に影響する因子および痛みへの影響についても両疾患での違いを明らかにした。

#### 参考文献

1) Kellgren JH, Lawrence JS. Radiological assessment of osteo-rhthrosis. Ann Rheum Dis 16, 494-502, 1957

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

##### 雑誌

1. Yoshimura N, Kinoshita H, Hori N, Nishioka T, Ryujin M, Mantani Y, Miyake M, Takeshita T, Ichinose M, Yoshida M, Oka H, Kawaguchi H,



- Nakamura K, Cooper C: Risk factors for knee osteoarthritis in Japanese men: A case control study. *Modern Rheumatology* 16: 24-29, 2006
2. Hashimoto J, Ohno I, Nakatsuka K, Yoshimura N, Takata S, Zamma M, Yabe H, Abe S, Terada M, Yoh K, Fukunaga M, Cooper C, Morii H, Yoshikawa H: Prevalence and clinical features of Paget's disease of bone in Japan. *J Bone Miner Metab* 24: 186-190, 2006
3. Takata S, Hashimoto J, Nakatsuka K, Yoshimura N, Yoh K, Ohno I, Yabe H, Abe S, Fukunaga S, Terada M, Zamma M, Ralston SH, Morii H, Yoshikawa H for the Japanese Committee on Clinical Guideline of Diagnosis and Treatment of Paget's Disease of Bone in Japan Osteoporosis Society: Guidelines for diagnosis and management of Paget's disease of bone in Japan. *J Bone Miner Metab* 24:359-367, 2006
4. Oka H, Yoshimura N, Kinoshita H, Saika A, Kawaguchi H, Nakamura K. Decreased activities of daily living and associations with bone loss among aged residents in a rural Japanese community: The Miyama Study. *J Bone Miner Metab* 24:307-313, 2006
5. Yoshimura N, Kinoshita H, Oka H, Muraki S, Mabuchi A, Kawaguchi H, Nakamura K. Cumulative Incidence and Changes in Prevalence of Vertebral Fractures in a Rural Japanese Community: A 10-year Follow-up of the Miyama Cohort. *Archives Osteoporos*, DOI 10.1007/s11657-006-0007-0, 2006
6. John A Kanis, Anders Oden, Olof Johnell, Helena Johansson, Chris De Laet, Jacques Brown, Peter Burckhardt, Cyrus Cooper, Claus Christiansen, Steven Cummings, John A Eisman, Saeko Fujiwara, Claus Gluer, David Goltzman, Didier Hans, Marc-Antoine Krieg, Andrea La Croix, Eugene McCloskey, Dan Mellstrom, L Joseph Melton III, Huibert Pols, Jonathan Reeve, Kerrie Sanders, Marie Schott, Alan Silman, David Torgerson, Tjeerd van Staa, Nelson B Watts, Noriko Yoshimura. The use of clinical risk factors enhances the performance of BMD in the prediction of hip and osteoporotic fractures in men and women, *Osteoporos Int*, in press, 2007
- 7 吉村典子、雑賀明宏、岡敬之:骨粗鬆症と変形性関節症の因果関係に関する研究(報告). *Osteoporos Jpn* 14, 25-29, 2006
8. 吉村典子、岡敬之:栄養改善による骨粗鬆症の予防-長期コホート研究の結果から-. *Clinical Calcium* 16, 103-109, 2006
9. 吉村典子:骨粗鬆症の現状を把握する:疫学(有病者数、骨折発生率、危険因子)、カレントセラピー24, 755-760, 2006
10. 村木重之、吉村典子:骨粗鬆症とそれによる骨折の頻度と予後. *Clinical Calcium* 16, 1431-1437, 2006
11. 吉村典子:骨粗鬆症の現況と未来 2006 巻頭言 *Clinical Calcium* 16, 1429, 2006
- 12 吉村典子:骨粗鬆症と性差、性差と医療 3(4), 16-17, 2006
13. 村木重之、吉村典子:脆弱性骨折の危険因子としてのステロイド. *Clinical Calcium* 16, 1797-1803, 2006
14. 吉村典子、岡敬之、村木重之、馬淵昭彦、延與良夫、吉田宗人、鈴木隆雄、山本精三、川口浩、中村耕三:変形性関節症の疫学研究. *日整会誌* 81, 17-21, 2007
- 著書
1. 吉村典子:II. 骨粗鬆症の疫学 2. 骨折の疫学 3) 非脊椎骨折(大腿骨頸部骨折を除く)骨粗鬆症診療ハンドブック改訂4版(中村利孝、松本俊夫編)、pp106-108、医薬ジャーナル社、大阪、2006
2. 吉村典子:診断のポイント 9-5. 骨粗鬆症. 女性診療外来マニュアル(天野恵子(編集代表)、松田昌子、藤井美保、片井みゆき編)、pp182-187、株式会社じほう、東京、2006
3. 吉村典子:骨粗鬆症の疫学. 骨粗鬆症の予防と治療ガイドライン 2006 年版(骨粗鬆症の予防と治療ガイドライン作成委員会(代表 折茂肇)編)、pp4-6、ライフサイエンス出版、東京、2006
4. 吉村典子:大腿骨頸部骨折の症例対照研究. 地域保健活動のための疫学 第2版(柳川洋、中村好一、児玉和紀、三浦宣彦編)、pp152、財団法人日本公衆衛生協会、東京、2006
- 学会発表
- a) 国際学会等
1. Yoshimura N, Kinoshita H, Oka H, Muraki S, Kawaguchi H, Nakamura K: Incidence and change of prevalence of vertebral fractures in a rural Japanese community: A 10-year follow-up of The Miyama Cohort. *IOF World Congress on Osteoporosis*, 2006. 6. Toronto-Canada
2. Oka H, Muraki S, Yoshimura N, Yamamoto S, Kawaguchi H, Nakamura K: Factors associated with mortality following hip fracture. *IOF World Congress on Osteoporosis*, 2006. 6 .



Toronto-Canada

3. Oka H, Yoshimura N, Suzuki T, Yoshida H, Muraki S, Mabuchi A, Matsudaira K, Kawaguchi H, Nakamura K: Epidemiology of osteoarthritis of the knee in arural Japanese population. IOF World Congress on Osteoporosis, 2006. 6 . Toronto-Canada

4. Yoshimura N, Muraki S, Oka H, Mabuchi A, En-yo Y, Yoshida M, Saika A, Suzuki T, Yoshida H, Ishibashi H, Yamamoto S, Kawaguchi H, Nakamura K: Prevalence of osteoarthritis at knee and lumbar spine in urban and rural communities: The research on osteoarthritis against disability (ROAD) study. Annual Meeting of American Society for Bone and Mineral Research, 2006. 9. Philadelphia-USA

5. Kawaguchi H, Yoshimura N, Muraki S, Oka H, Mabuchi A, En-yo Y, Yoshida M, Saika A, Suzuki T, Yoshida H, Ishibashi H, Yamamoto S, Nakamura K: Prevalence of radiographic osteoarthritis of knee and lumbar spine, and its association with pain: The research on osteoarthritis against disability (ROAD) studyP. OARSI 11th World Congress on Osteoarthritis, 2006. 12, . Prague\_ Czech Republic

b) シンポジウム, 学術講演等

1. 吉村典子, 岡敬之, 川口浩, 中村耕三: 変形性関節症の疫学研究. 第 79 回日本整形外科学会学術総会 シンポジウム「運動器の 10 年 変形性関節症の病態解明・診断・治療の新世紀」, 2006. 5. 横浜市

2. 吉村典子: わが国における原発性骨粗鬆症の現状. 第 79 回日本整形外科学会学術総会シンポジウム「運動器の 10 年 骨粗鬆症の現状と展望」, 2006. 5. 横浜市

3. 吉村典子, 岡敬之, 村木重之, 川口浩, 中村耕三: 男性骨粗鬆症: 骨折頻度と骨代謝マーカー値. 第 8 回骨粗鬆症学会シンポジウム「男性骨粗鬆症」, 2006. 10. 東京都

4. 吉村典子: 変形性関節症の実態 OA 臨床研究プロジェクト ROAD (Research on Osteoarthritis Against Disability) より. 第 8 回骨粗鬆症学会イブニングセミナー「日本人女性の運動器疾患の現状と展望-性差医療の視点から.」, 2006. 10. 東京都

5. 吉村典子, 岡敬之, 村木重之, 馬淵昭彦, 川口浩, 中村耕三: 都市型および地方型コホートをを用いた中高年者における変形性関節症の有病率とその疫学的特性. 第 21 回日本整形外科学会基礎学術

集会ワークショップ「変形性膝関節症」, 2006. 10 長崎

6. 村木重之, 吉村典子, 岡敬之, 村木重之, 馬淵昭彦, 川口浩, 中村耕三: 大規模コホートにおける変形性膝関節症の有病率と膝痛への影響. 第 21 回日本整形外科学会基礎学術集会ワークショップ「変形性膝関節症」, 2006. 10 長崎

c) 全国学会

1. 吉村典子, 村木重之, 岡敬之, 馬淵昭彦, 延與良夫, 吉田宗人, 雑賀明宏, 鈴木隆雄, 吉田英世, 石橋英明, 山本精三, 川口浩, 中村耕三: 一般住民における変形性関節症の有病率とその地域差: Research on Osteoarthritis Against Disability (ROAD) プロジェクト. 第 24 回日本骨代謝学会学術集会, 2006. 7. 東京都

2. 岡敬之, 吉村典子, 村木重之, 馬淵昭彦, 延與良夫, 吉田宗人, 雑賀明宏, 川口浩, 中村耕三: ビタミンK 摂取不足は変形性膝関節症と関連する: ROAD (research on osteoarthritis against disability) プロジェクト山村部コホートにおける検討. 第 24 回日本骨代謝学会学術集会. 2006. 7. 東京都

3. 吉村典子, 岡敬之, 村木重之, 馬淵昭彦, 川口浩, 中村耕三: 骨粗鬆症の有病率の推移と発生率の推定. 第 8 回日本骨粗鬆症学会. 2006. 10. 東京都

4. 吉村典子, 村木重之, 岡敬之, 馬淵昭彦, 延與良夫, 吉田宗人, 雑賀明宏, 鈴木隆雄, 吉田英世, 石橋英明, 山本精三, 川口浩, 中村耕三: 変形性関節症の有病率と患者数の推定: Research on Osteoarthritis Against Disability (ROAD) プロジェクト. 第 8 回日本骨粗鬆症学会. 2006. 10. 東京都

5. 岡敬之, 吉村典子, 村木重之, 馬淵昭彦, 延與良夫, 吉田宗人, 雑賀明宏, 川口浩, 中村耕三: 変形性関節症と経口摂取栄養素との関連: ROAD (Research on Osteoarthritis Against Disability) プロジェクト山村部コホートにおける検討. 第 8 回日本骨粗鬆症学会. 2006. 10. 東京都

6. 村木重之, 吉村典子, 岡敬之, 村木重之, 馬淵昭彦, 川口浩, 中村耕三: 腰椎椎間別における変形性腰椎症の有病率と腰痛への影響. 第 21 回日本整形外科学会基礎学術集会, 2006. 10 長崎

7. 岡敬之, 吉村典子, 村木重之, 馬淵昭彦, 川口浩, 中村耕三: コンピュータによる変形性膝関節症 X 線画像自動読影システムの開発. 第 21 回日本整形外科学会基礎学術集会. 2006. 10 長崎

8. 延與良夫, 吉田宗人, 川上守, 安藤宗治, 南出晃人, 中川幸洋, 麻殖生和博, 岡田基宏, 遠藤

徹、中尾慎一、吉村典子、岡敬之、村木重之、馬淵昭彦、中村耕三、川口浩、雜賀明宏. 腰部脊柱管狭窄の山村地域での発生頻度：Research on Osteoarthritis Against Disability (ROAD) プロジェクト. 第 21 回日本整形外科学会基礎学術集会. 2006. 10 長崎

9. 吉村典子、村木重之、岡敬之、馬淵昭彦、川口浩、中村耕三：変形性関節症の有病率の推定：Research on Osteoarthritis Against Disability (ROAD) プロジェクトより. 第 17 回日本疫学会学術総会 2007. 1 広島

10. 岡敬之、吉村典子、村木重之、馬淵昭彦、川口浩、中村耕三：変形性膝関節症 X 線画像自動読影システムの開発とその信頼性. 第 20 回日本軟骨代謝学会. 2007. 3 岡山

11. 村木重之、吉村典子、岡敬之、馬淵昭彦、延與良夫、吉田宗人、雜賀明宏、鈴木隆雄、吉田英世、石橋英明、山本精三、川口浩、中村耕三：変形性関節症が痛みに及ぼす影響：ROAD プロジェクト. 第 20 回日本軟骨代謝学会. 2007. 3 岡山

12. 吉村典子、村木重之、岡敬之、馬淵昭彦、川口浩、中村耕三：本邦における変形性膝関節症および変形性腰椎症の有病率：Research on osteoarthritis against disability (ROAD) プロジェクト. 第 20 回日本軟骨代謝学会. 2007. 3 岡山

13. 馬淵昭彦、村木重之、岡敬之、吉村典子、川口浩、中村耕三：日本人における変形性膝関節症感受性遺伝子の関連解析. 第 20 回日本軟骨代謝学会. 2007. 3 岡山

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  
平成18年度分担研究報告書  
変形性関節症の大規模臨床統合データベースの確立(2):松代検診

分担研究者 大森 豪(新潟大学超域研究機構 教授)

研究要旨:変形性関節症(膝0A)に関する大規模住民コホート作成の一環として、我々が過去20年以上にわたり縦断的に変形性膝関節症に対する住民調査を実施してきた新潟県松代地区を対象として、2007年の本検診に向けたプレ検診を実施した。約1000名に対してX線、筋力評価、歩行解析などを行った結果、60歳以上の男女での変形性膝関節症が20%以上の発症率であること、大腿四頭筋力が年齢に伴い低下する事が明らかとなった。

#### A. 研究目的

膝0Aの大規模データベースを作成する一環として、本疾患に関する疫学的長期縦断調査を実施している集団を対象としてコホートとして組み入れ、変形性膝関節症の発症進行因子を疫学的に解明することを目的とした。

#### B. 研究方法

我々が過去20年以上にわたり膝0Aの疫学調査を行ってきた新潟県松代地区の住民を対象として、コホートへの参加を目的として、2007年度の本検診を前に予備調査を実施した。検診内容は、問診、膝診察、立位膝X線、筋力評価、歩行解析とした。

(倫理面への配慮)

事前に新潟大学医学部倫理委員会にて承認を受け、さらに、実施に際しては検診の目的を説明の上同意を得た上で行った。

#### C. 研究結果

検診受診者は約1000人であった。膝0Aの発症率は男女とも年齢とともに増加し60歳以上で30%、80歳以上で60%以上となっていた。また、大腿四頭筋力は男女とも年齢とともに低下し膝0Aの発症との間に相関を認めた。

#### D. 考察

今回の検診において下肢筋力および歩行解析が定量的に可能であることが確認された。現在、過去20年間の縦断的なデータとの関係を解析中である。また、この結果を踏まえて2007年には他のコホートで実施しているのと同様の調査内容を加味した本検診を実施する予定である。

#### E. 結論

膝0Aに関する大規模住民コホート作成の一環として新潟県松代地区の住民を対象とした住民膝検診を予備調査を実施した。この結果は、2007

年に実施予定の本検診に有意義であった。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) 大森 豪 他:疫学調査から見た内側型変形性膝関節症の発症要因 日本整形外科学会誌 80: 927-932、2006
- 2) 大森 豪 他:変形性膝関節症の疫学 臨床整形外科 42:7-14、2006

##### 2. 学会発表

- 1) 大森豪 他:変形性膝関節症に対する大腿四頭筋力強化の意義と臨床効果. 第31回日本膝学会シンポジウム. 2006. 6. 8 沖縄
- 2) 日向野行正、大森豪 他:松代町における21年間にわたる膝検診の関節裂隙幅、膝外側角、骨皮質幅のX線学的検討. 第21回日本整形外科学会基礎学術集会ワークショップ. 2006. 10. 19-20、長崎

#### G. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし



## 変形性関節症の標的分子の解明（1）：マウスゲノミクスによる解析

分担研究者 川口 浩（東京大学医学部附属病院・整形外科 助教授）

研究要旨：初年度に確立したマウス変形性関節症（OA）モデルを、各種候補分子の遺伝子操作マウスに作成し、それらの分子のOAの発症・進展に対する効果を検討した。これによって、転写因子 Runx2 が軟骨破壊に、我々がクローニングした新規分子 carminerin が骨棘形成にとって重要な分子であることが示され、軟骨細胞肥大分化がOA発症の引き金になることが明らかとなった。炎症性分子である cyclooxygenase-2 (COX-2)、prostaglandin E synthase (PGES)、TNF- $\alpha$  および IL-1 の関与は否定的であった。また、細胞内シグナル分子である IRS-1, -2, PPAR $\gamma$  の欠損もOAの進行に影響がなかった。今後は、軟骨細胞肥大化に関連する分子を網羅的に解析することによって、OAの背景にある分子ネットワークの解明を行う予定である。

### A. 研究目的

変形性関節症（OA）の分子背景については殆ど解明されていない。この要因のひとつとして、遺伝子改変のシステムが確立されているマウスにおいて適当なOA誘発モデルが存在しなかったことが挙げられる。我々は初年度において、微小外科手術によって膝関節に関節不安定性を加えることで4つのタイプのマウス膝OA誘発モデルを作製し、軟骨破壊および骨棘形成をgradingするシステムを樹立した（*Osteoarthritis Cart* 13:632, 2005）。本研究では、このOAモデルにおいて関節軟骨を組織学的に観察して発現分子を同定し、候補遺伝子の遺伝子改変マウスにOAモデルを作製することによって、OAの分子背景の解明を目指している。

### B. 研究方法

マウスにOAモデルを作製し、各種転写因子、コラーゲン、蛋白分解酵素、炎症性サイトカインなど関連分子の発現を、免疫染色、in situ hybridizationを用いて経時的に観察した。また、関与が疑われた分子の遺伝子改変マウスにOAモデルを作成し、OAの進行過程を組織学的、X線にて検討し、軟骨破壊および骨棘形成をgradingした。

（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. 結果

マウスOA関節軟骨の経時的な組織学的観察から、その表層において軟骨破壊の初期にX型コラーゲン（COL10）発現で示される軟骨細胞の肥大化が見られ、この肥大軟骨細胞から分泌されるMMP-13やaggrecanase-2などの蛋白分解酵素に

よって軟骨基質の変性が起こることがOAの引き金となると考えられた。そこで、軟骨肥大化に必須の転写因子であるRunx2 (Cbfa1)の発現を検討したところ、OA負荷によって軟骨細胞で誘導された。Runx2ヘテロ欠損マウス (Runx2+/-)にOAモデルを作製すると、軟骨細胞の肥大化、関節軟骨の変性・破壊が同胞野生型 (WT) に比べて抑制されていた (*Arthritis Rheum* 54:2462, 2006)。また、軟骨の後期分化促進遺伝子として我々が同定したcarminerin (cystatin 10) (*J Biol Chem* 278:48259, 2003)の欠損マウスに上記OA誘発モデルを作製したところ、軟骨変性はWTと同程度に進行したが、骨棘形成が低下していた。また、老化に伴う異所性石灰化や骨折治癒も抑制されていた (*Nature Med* 12:665, 2006)。以上より、Runx2によって永久軟骨であるはずの関節軟骨表層の軟骨細胞の肥大化が誘導されることがOA発症の引き金となること、carminerinはOA負荷や老化などの病的条件下における石灰化に重要であることが示された。

また、従来よりOAの発症に炎症反応の関与が指摘されているため、炎症性プロスタグランジン合成酵素であるcyclooxygenase-2 (COX-2) およびprostaglandin E synthase (PGES)、炎症性サイトカインであるTNF- $\alpha$  およびIL-1の欠損マウスにOAモデルを作成した。その結果、どのマウスにおいてもWTと同程度にOAの発症・進行が見られ、これらの炎症性因子はOAの原因分子としての可能性は低いと考えられた。更に、細胞内シグナル分子であるIRS-1, -2, PPAR $\gamma$ についてもその欠損マウスの解析を行ったが、OAの程度にWTと有意な差は見られなかった。

### D. 考察

OA発症の原因として、従来指摘されていた炎

症反応ではなく、関節軟骨表層では起こらないはずの軟骨細胞の肥大分化が指摘された。これは、永久軟骨である関節軟骨が、生理的に軟骨内骨化を起こす成長軟骨の性質を獲得した現象と言える。成長軟骨の肥大軟骨細胞はMMPやaggrecanaseなどの蛋白分解酵素を分泌して周りの基質を分解し、ここに血管が誘導されることによって骨化を起こす。関節軟骨においても、過度の力学的負荷の蓄積に抗しきなくなると軟骨内骨化をするために細胞の肥大分化が起こるものと推察される。滑膜や靭帯に接して血管の侵入が可能な関節辺縁では軟骨内骨化が起こって力学的要請に応じた骨棘が出来る。一方、関節の内部では血管侵入が出来ないために骨化することなく軟骨の破壊だけで終わってしまうと考えられる。

更に最近我々はCOL10プロモータエンハンサー領域を同定してこれを用いた発現クローニングシステムを樹立した。これを用いて軟骨細胞肥大分化のシグナル分子の網羅的解析に着手している。

#### E. 結論

マウスジェネティクスを用いた検討で、Runx2による関節軟骨表層の軟骨細胞の肥大分化がOAの発症に、carminerinが骨棘形成に重要なシグナル分子であることが示された。炎症性分子の関与は否定的であった。今後は、軟骨細胞肥大化に関連する分子を網羅的に解析することによって、OAの背景にある分子ネットワークの解明を行う予定である。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Katagiri M, Ogasawara T, Hoshi K, Chikazu D, Kimoto A, Noguchi M, Sasamata M, Harada S, Akama H, Tazaki H, Chung UI, Takato T, Nakamura K, and Kawaguchi H: Suppression of adjuvant-induced arthritic bone destruction by cyclooxygenase-2 selective agents with and without inhibitory potency against carbonic anhydrase II. *J Bone Miner Res* 21: 219-227, 2006.
2. Kugimiya F, Ohba S, Nakamura K, Kawaguchi H, and Chung UI: Physiological role of bone morphogenetic proteins in osteogenesis. *J Bone Miner Metab* 24: 95-99, 2006.
3. Yoshimura N, Kinoshita H, Hori N, Nishioka T, Ryuji M, Mantani Y, Miyake M, Takeshita T, Ichinose M, Yoshida M, Oka H, Kawaguchi H, Nakamura K, Cooper C: Risk factors for knee osteoarthritis in Japanese men: a case-control study. *Mod Rheumatol* 16: 24-29, 2006.
4. Seichi A, Takeshita K, Kawaguchi H, Matsudaira K, Higashikawa A, Ogata N, and Nakamura K: Neurological level diagnosis of cervical stenotic myelopathy. *Spine* 31: 1338-1343, 2006.
5. Yamada T, Kawano H, Koshizuka Y, Fukuda T, Yoshimura K, Kamekura S, Saito T, Ikeda T, Kawasaki Y, Azuma Y, Ikegawa S, Hoshi K, Chung UI, Nakamura K, Kato S, and Kawaguchi H: Carminerin contributes to chondrocyte calcification during endochondral ossification. *Nature Med* 12: 665-670, 2006.
6. Yamaoka H, Asato H, Ogasawara T, Nishizawa S, Takahashi T, Nakatsuka T, Koshima I, Nakamura K, Kawaguchi H, Chung UI, Takato T, and Hoshi K: Cartilage tissue engineering using human auricular chondrocytes embedded in different hydrogel materials. *J Biomed Mater Res A* 78: 1-11, 2006.
7. Horikoshi T, Maeda K, Kawaguchi Y, Chiba K, Mori K, Koshizuka Y, Hirabayashi S, Sugimori K, Matsumoto M, Kawaguchi H, Takahashi M, Inoue H, Kimura T, Matsusue Y, Inoue I, Baba H, Nakamura K, Ikegawa S: A large-scale genetic association study of ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine. *Hum Genet* 119: 611-616, 2006.
8. Oka H, Yoshimura N, Kinoshita H, Saiga A, Kawaguchi H, and Nakamura K: Decreased activities of daily living and associations with bone loss among aged residents in a rural Japanese community: the Miyama Study. *J Bone Miner Metab* 24: 307-313, 2006.
9. Kamekura S, Kawasaki Y, Hoshi K, Shimoaka T, Chikuda H, Maruyama Z, Komori T, Sato S, Takeda S, Karsenty G, Nakamura K, Chung UI, and Kawaguchi H: Contribution of runt-related transcription factor 2 to the pathogenesis of osteoarthritis in mice after induction of knee joint instability. Runx2 contributes to pathogenesis of osteoarthritis in mice



- after induction of knee joint instability. *Arthritis Rheum* 54: 2462-2470, 2006.
10. Shinoda Y, Yamaguchi M, Ogata N, Akune T, Kubota N, Yamauchi T, Terauchi Y, Kadowaki T, Takeuchi Y, Fukumoto S, Ikeda T, Hoshi K, Chung UI, Nakamura K, and Kawaguchi H: Regulation of bone formation by adiponectin through autocrine/paracrine and endocrine pathways. *J Cell Biochem* 99: 196-208, 2006.
  11. Koshizuka Y, Ogata N, Shiraki M, Hosoi T, Seichi A, Takeshita K, Nakamura K, and Kawaguchi H: Distinct association of gene polymorphisms of estrogen receptor and vitamin D receptor with lumbar spondylosis in postmenopausal women. *Eur Spine J* 15: 1521-1528, 2006.
  12. Moro T, Takatori Y, Ishihara K, Nakamura K, and Kawaguchi H: Grafting of biocompatible polymer for longevity of artificial hip joints. *Clin Orthop Rel Res* 453: 58-63, 2006.
  13. Kawaguchi H: Molecular backgrounds of age-related osteoporosis from mouse genetics approaches. *Rev Endocr Metab Disord* 7: 17-22, 2006.
  14. Kono SJ, Ohshima Y, Hoshi K, Bonewald LF, Oda H, Nakamura K, Kawaguchi H, and Tanaka S: Erk pathways negatively regulate matrix mineralization. *Bone* 40: 68-74, 2007.
  15. Kosaki N, Takaishi H, Kamekura S, Kimura T, Okada Y, Minqi L, Amizuka N, Chung UI, Nakamura K, Kawaguchi H, Toyama Y, and D'Armiento J: Impaired bone fracture healing in matrix metalloproteinase-13 deficient mice. *Biochem Biophys Res Commun* 354: 846-51, 2007.
  16. Fijita T, Orimo H, Inoue T, Kaneda K, Sakurai M, Morita R, Yamamoto K, Sugioka Y, Inoue A, Takaoka K, Yamamoto I, Hoshino Y, and Kawaguchi H: Clinical effect of bisphosphonate and vitamin D on osteoporosis: reappraisal of a multicenter double-blind clinical trial comparing etidronate and alfacalcidol. *J Bone Miner Metab* 25: 130-137, 2007.
  17. Kawaguchi H, Jingushi S, Izumi T, Fukunaga M, Matsushita T, Nakamura T, Mizuno K, Nakamura T, and Nakamura K: Local application of recombinant human fibroblast growth factor-2 on bone repair: a dose-escalation prospective trial on patients with osteotomy. *J Orthop Res* 25: 480-487, 2007.
  18. Kyomoto M, Moro T, Konno T, Takadama H, Kawaguchi H, Takatori Y, Nakamura K, Yamawaki N, and Ishihara K: Effects of photo-induced graft polymerization of 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine on physical properties of cross-linked polyethylene in artificial hip joints. *J Mater Sci-Mater M* (in press).
  19. Kyomoto M, Moro T, Konno T, Takadama H, Yamawaki N, Kawaguchi H, Takatori Y, Nakamura K, and Ishihara K: Enhanced wear resistance of modified cross-linked polyethylene by grafting with poly(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine). *J Biomed Mater Res A* (in press).
  20. Ohba S, Ikeda T, Kugimiya F, Yano F, Lichtler AC, Nakamura K, Takato T, Kawaguchi H, and Chung UI: Identification of a potent combination of osteogenic genes for bone regeneration using embryonic stem (ES) cell-based sensor. *FASEB J* (in press).
  21. Saito T, Ikeda T, Nakamura K, Chung UI, and Kawaguchi H: S100A1 and B, transcriptional targets of SOX trio, inhibit terminal differentiation of chondrocytes. *EMBO Rep* (in press).
  22. Kyomoto M, Iwasaki Y, Moro T, Konno T, Miyaji F, Kawaguchi H, Takatori Y, Nakamura K, and Ishihara K: High lubricious surface of cobalt-chromium-molybdenum alloy prepared by grafting poly(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine). *Biomaterials* (in press).
  23. Kawaguchi H: Reverse and forward genetic approaches to the pathophysiology of osteoporosis. *Geriatr Gerontol Int* (in press).
  24. Kawaguchi H, Akune T, Ogata N, Seichi A, Takeshita K, and Nakamura K: Contribution of metabolic conditions to



ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine. *in* "OPLL - Ossification of the Posterior Longitudinal Ligament - 2nd Edition". edited by K. Yonenobu, T. Nakamura, and Y. Toyama: 7 (Springer-Verlag Tokyo).

2. 学会発表

1. Kawaguchi H: Mouse genomics and osteoarthritis (Meet the Professor Lecture). 28th annual meeting of the American Society for Bone and Mineral Research. 2006. 9.15-19 (Philadelphia, Pennsylvania, USA).
2. Kawasaki Y, Kugimiya F, Chikuda H, Ikeda T, Saito T, Yano F, Nakamura K, Chung UI, and Kawaguchi H: cGKII Controls Hypertrophic Differentiation of Chondrocytes through Phosphorylation and Inactivation of GSK-3 $\beta$  (Young Investigator Award). 28th annual meeting of the American Society for Bone and Mineral Research. 2006. 9.15-19 (Philadelphia, Pennsylvania, USA).
3. Maruyama Z, Fujita T, Miyazaki T, Furuichi T, Fukuyama R, Kanatani N, Yamana K, Yoshida C, Toyosawa S, Moriishi T, Kawaguchi H, Komori T: Overexpression of osterix in osteoblasts inhibits osteoblast maturation, but increases osteocyte numbers due to enhanced angiogenesis through VEGF induction (Young Investigator Award). 28th annual meeting of the American Society for Bone and Mineral Research. 2006. 9.15-19 (Philadelphia, Pennsylvania, USA).
4. Shinoda Y, Ogata N, Manabe I, Kugimiya N, Chung UI, Nagai R, Nakamura K, and Kawaguchi H: Kruppel-like zinc-finger transcription factor 5 (KLF5) contributes to the last stage of endochondral ossification through transcriptional induction of MMP-9. 28th annual meeting of the American Society for Bone and Mineral Research. 2006. 9.15-19 (Philadelphia, Pennsylvania, USA).
5. Kosaki N, Kamekura S, Kawaguchi H, Kimura T, Okada Y, Minqi L, Amizuka N, Toyama Y, D'Armiento J, and Takaiishi H: Impaired bone healing in matrix metalloproteinase 13 deficient mice. 28th annual meeting of the American Society for Bone and Mineral Research. 2006. 9.15-19 (Philadelphia, Pennsylvania, USA).
6. Shinoda Y, Kawaguchi H, Higashikawa A, Nakamura K, Chung UI, and Ogata N: Intermittent and continuous PTH treatments act on differentiated osteoblasts which induce bone formation and resorption through distinct mechanisms. 28th annual meeting of the American Society for Bone and Mineral Research. 2006. 9.15-19 (Philadelphia, Pennsylvania, USA).
7. Saito T, Ikeda T, Higashikawa A, Chung UI, Nakamura K, and Kawaguchi H: Transcriptional induction of type X collagen by hypoxia-inducible factor (HIF) family members HIF2A and ARNT in chondrocytes. 28th annual meeting of the American Society for Bone and Mineral Research. 2006. 9.15-19 (Philadelphia, Pennsylvania, USA).
8. Ikeda T, Saito T, Ushita M, Yano F, Kan A, Nakamura K, Kawaguchi H, and Chung UI: Identification and characterization of embryonic SOX6 promoter. 28th annual meeting of the American Society for Bone and Mineral Research. 2006. 9.15-19 (Philadelphia, Pennsylvania, USA).
9. Hoshi K, Liu G, Ogasawara T, Asawa Y, Takahashi T, Yamaoka H, Chung UI, Takato T, Nakamura K, and Kawaguchi H: Optimal combination of soluble factors for tissue engineering of permanent cartilage with high quality and quantity from autologous human chondrocytes. 28th annual meeting of the American Society for Bone and Mineral Research. 2006. 9.15-19 (Philadelphia, Pennsylvania, USA).
10. Yoshimura N, Muraki S, Oka H, Mabuchi A, En-yo Y, Yoshida M, Saiga A, Suzuki T, Yoshida H, Ishibashi H, Yamamoto S, Kawaguchi H, and Nakamura K: Prevalence of osteoarthritis at knee and lumbar spine in urban and rural communities: The Research on Osteoarthritis Against Disability (ROAD) study. 28th annual meeting of the American Society for Bone and Mineral Research. 2006. 9.15-19 (Philadelphia, Pennsylvania, USA).
11. Kawasaki Y, Kugimiya F, Chikuda H, Ikeda

- T, Kamekura S, Yano F, Saito T, Higashikawa A, Ushita M, Nakamura K, Chung UI, and Kawaguchi H: Cyclic GMP-dependent protein kinase II (cGKII) controls hypertrophic differentiation of chondrocytes through phosphorylation and inactivation of GSK-3 $\beta$  (Outstanding Abstract Award) (Roger Melick Young Investigator Award) (Travel Award). IOF-ANZBMS (3rd IOF Asia-Pacific Regional Conference on Osteoporosis and 16th Annual Meeting of the Australian & New Zealand Bone & Mineral Society) 2006. 10.22-26 (Port Douglas, Australia).
12. Shinoda Y, Ogata N, Manabe I, Yamada T, Kugimiya F, Chung UI, Nagai R, Nakamura K, and Kawaguchi H: Kruppel-Like Zinc-Finger Transcription Factor 5 (KLF5) Contributes to the last stage of endochondral ossification through transcriptional induction of MMP-9 (Travel Award). IOF-ANZBMS (3rd IOF Asia-Pacific Regional Conference on Osteoporosis and 16th Annual Meeting of the Australian & New Zealand Bone & Mineral Society) 2006. 10.22-26 (Port Douglas, Australia).
  13. Kawamura N, Kugimiya F, Tobe K, Kadowaki T, Nakamura K, Chung UI, and Kawaguchi H: Akt1 in Osteoblasts and osteoclasts contributes to the maintenance of bone mass and turnover (Travel Award). IOF-ANZBMS (3rd IOF Asia-Pacific Regional Conference on Osteoporosis and 16th Annual Meeting of the Australian & New Zealand Bone & Mineral Society) 2006. 10.22-26 (Port Douglas, Australia).
  14. Shinoda Y, Kawaguchi H, Higashikawa A, Nakamura K, Chung UI, and Ogata N: Intermittent and continuous PTH treatments act on differentiated osteoblasts which induce bone formation and resorption through distinct mechanisms. IOF-ANZBMS (3rd IOF Asia-Pacific Regional Conference on Osteoporosis and 16th Annual Meeting of the Australian & New Zealand Bone & Mineral Society) 2006. 10.22-26 (Port Douglas, Australia).
  15. Oka H, Yoshimura N, Muraki S, Mabuchi A, En-yo Y, Yoshida M, Saiga A, Kawaguchi H, and Nakamura K: Vitamin K intake is lower in knee osteoarthritis patients – A general population-based cohort study – The ROAD project. IOF-ANZBMS (3rd IOF Asia-Pacific Regional Conference on Osteoporosis and 16th Annual Meeting of the Australian & New Zealand Bone & Mineral Society) 2006. 10.22-26 (Port Douglas, Australia).
  16. Muraki S, Oka H, Mabuchi A, En-yo Y, Yoshida M, Saiga A, Suzuki T, Yoshida H, Ishibashi H, Yamamoto S, Kawaguchi H, Nakamura K, and Yoshimura N: The impact of osteoarthritis on knee pain in urban and rural communities: the Research on Osteoarthritis Against Disability (ROAD) study. IOF-ANZBMS (3rd IOF Asia-Pacific Regional Conference on Osteoporosis and 16th Annual Meeting of the Australian & New Zealand Bone & Mineral Society) 2006. 10.22-26 (Port Douglas, Australia).
  17. Kawaguchi H: Molecular backgrounds of osteoarthritis from mouse genetics approaches. The 9th Annual Meeting of the Korean Society of Osteoporosis. 2006. 12. 3 (Seoul, Korea).
  18. Kawaguchi H: Molecular backgrounds of osteoarthritis from mouse genetics approaches. 2006 World Congress on Osteoarthritis (OARSI). 2006. 12. 7-10 (Prague, Czech Republic).
  19. Kawaguchi H, Yoshimura N, Muraki S, Oka H, Mabuchi A, En-yo Y, Yoshida M, Saiga A, Suzuki T, Yoshida H, Ishibashi H, Yamamoto S, and Nakamura K: Prevalence of radiographic osteoarthritis of knee and lumbar spine, and its association with pain: The Research on Osteoarthritis Against Disability (ROAD) study. 2006 World Congress on Osteoarthritis (OARSI). 2006. 12. 7-10 (Prague, Czech Republic).
  20. 石山典幸、茂呂徹、三浦俊樹、川口浩、大江隆史: 生体適合性ポリマーゲルの腱損傷モデルにおける癒着防止効果(ポスター会長賞受賞)。第49回日本手の外科学会学術集会。2006. 4. 20-21 (アクトシティ浜松、静岡)。
  21. 川口浩: 骨・関節疾患治療の新展開。平成18年度 群馬慢性疼痛研究会。2006. 4. 21 (群馬ロイヤルホテル、群馬)。
  22. 川口浩、亀倉暁、山田高嗣、山川聖史、中村



- 耕三:マウスゲノミクスによる変形性関節症の分子背景の解明(シンポジウム:変形性関節症 up-to-date). 第50回日本リウマチ学会総会・学術集会. 2006. 4. 23-26 (長崎ブリックホール、長崎).
23. 川口浩:「関節の痛み、骨の痛み」イントロダクション. 第79回日本整形外科学会学術集会主催市民公開講座. 2006. 5. 14 (大手町サンケイプラザホール、東京).
  24. 川口浩、中村耕三:リコンビナントヒト線維芽細胞増殖因子-2 (FGF-2)による骨折治癒促進(シンポジウム:骨折治療の新世紀). 第79回日本整形外科学会学術集会. 2006. 5. 18-21 (パシフィコ横浜、神奈川).
  25. 岡敬之、吉村典子、川口浩、中村耕三:厚生労働省医療施設調査に見る運動器研修の必要性(パネルディスカッション:臨床研修制度と整形外科). 第79回日本整形外科学会学術集会. 2006. 5. 18-21 (パシフィコ横浜、神奈川).
  26. 吉村典子、岡敬之、川口浩、中村耕三:変形性関節症の疫学研究(シンポジウム:変形性関節症の病態解明・診断・治療の新世紀). 第79回日本整形外科学会学術集会. 2006. 5. 18-21 (パシフィコ横浜、神奈川).
  27. Moro T, Takatori Y, Ishihara K, Konno T, Takadama H, Yamawaki N, Kyomoto M, Yamamoto M, Karita T, Nakamura K, and Kawaguchi H: Biocompatible MPC polymer grafting prevents aseptic loosening of the artificial hip joints (シンポジウム: Advances in total hip replacement). 第79回日本整形外科学会学術集会. 2006. 5. 18-21 (パシフィコ横浜、神奈川).
  28. Seichi A, Takeshita K, Kawaguchi H, and Nakamura K: Application of the navigation system to spine surgery (シンポジウム: Current status of spinal surgery). 第79回日本整形外科学会学術集会. 2006. 5. 18-21 (パシフィコ横浜、神奈川).
  29. Seichi A, Takeshita K, Murakami M, Hashimoto H, Kawaguchi H, and Nakamura K: Clinical accuracy of computer-assisted cervical screw placement. 第79回日本整形外科学会学術集会. 2006. 5. 18-21 (パシフィコ横浜、神奈川).
  30. Ishiyama N, Moro T, Ohe T, Miura T, Ishihara K, Konno T, Kimura M, Nakamura K, and Kawaguchi H: New treatment for “intrasyovial-like” tendon healing: biodissociated phospholipid polymer hydrogel prevents adhesion without impairing tendon healing. 第79回日本整形外科学会学術集会. 2006. 5. 18-21 (パシフィコ横浜、神奈川).
  31. 川口浩:骨粗鬆症の病態解明と治療の最前線. 第17回栃木県骨・カルシウム代謝研究会(特別講演). 2006. 6. 23 (宇都宮グランドホテル、栃木).
  32. 川口浩、阿久根徹、緒方直史、星和人、篠田裕介、河村直洋、山口雅之、鄭雄一、門脇孝、中村耕三:糖代謝・脂質代謝調節分子による骨代謝制御(ミニシンポジウム:骨代謝の神経・内分泌系による調節). 第24回日本骨代謝学会. 2006. 7. 6-8 (東京ファッションタウン、東京).
  33. 川口浩:骨粗鬆症治療 一骨量から骨強度へ (イブニングセミナー:PTHの骨作用:基礎と臨床). 第24回日本骨代謝学会. 2006. 7. 6-8 (東京ファッションタウン、東京).
  34. 山田高嗣、河野博隆、腰塚裕、中村耕三、加藤茂明、川口浩:軟骨特異的新規遺伝子 carminerin の機能解析-病的骨化への関与 (ミニシンポジウム:硬組織疾患とモデル動物). 第24回日本骨代謝学会. 2006. 7. 6-8 (東京ファッションタウン、東京).
  35. 釘宮典孝、中村耕三、川口浩、鄭雄一: Bone morphogenetic protein シグナルによる骨形成調節作用 (ミニシンポジウム:骨芽細胞の分化制御). 第24回日本骨代謝学会. 2006. 7. 6-8 (東京ファッションタウン、東京).
  36. 河村直洋、釘宮典孝、門脇孝、中村耕三、鄭雄一、川口浩: Akt1 シグナルは FoxO3a、Bim の抑制を介して骨芽細胞のアポトーシスを阻害して骨量を維持する (学会奨励賞受賞) (IOF-ANZBMS Travel Award 受賞). 第24回日本骨代謝学会. 2006. 7. 6-8 (東京ファッションタウン、東京).
  37. 川崎洋介、釘宮典孝、筑田博隆、池田敏之、星和人、小笠原徹、亀倉暁、斉藤琢、矢野文子、中村耕三、鄭雄一、川口浩: cGKII は GSK3 $\beta$  をリン酸化・不活化することによって軟骨細胞の肥大分化を制御する (優秀演題賞受賞) (IOF-ANZBMS Travel Award 受賞). 第24回日本骨代謝学会. 2006. 7. 6-8 (東京ファッションタウン、東京).
  38. 小崎直人、亀倉暁、川口浩、李敏啓、網塚憲生、戸山芳昭、高石官成: MMP-13 は骨折治癒過程における軟骨性仮骨の吸収に必要である (優秀演題賞受賞). 第24回日本骨代謝学会. 2006. 7. 6-8 (東京ファッションタウン、東京).



39. 篠田裕介、緒方直史、真鍋一郎、山田高嗣、釘宮典孝、鄭雄一、中村耕三、川口造：転写因子 KLF5 による軟骨内骨化の制御とそのメカニズム (IOF-ANZBMS Travel Award 受賞). 第 24 回日本骨代謝学会. 2006. 7.6-8 (東京ファッションタウン、東京).
40. 篠田裕介、緒方直史、東川晶郎、中村耕三、鄭雄一、川口造：副甲状腺ホルモンの骨形成および骨吸収促進作用の細胞・分子メカニズム (IOF-ANZBMS Travel Award 受賞). 第 24 回日本骨代謝学会. 2006. 7.6-8 (東京ファッションタウン、東京).
41. 池田敏之、斎藤琢、牛田正宏、菅哲徳、矢野文子、中村耕三、川口造、鄭雄一：p63 は軟骨特異的遺伝子の転写を活性化する. 第 24 回日本骨代謝学会. 2006. 7.6-8 (東京ファッションタウン、東京).
42. 池田敏之、斎藤琢、牛田正宏、菅哲徳、矢野文子、中村耕三、川口造、鄭雄一：SOX6 プロモーターには種間高度保存エンハンサー配列が存在する. 第 24 回日本骨代謝学会. 2006. 7.6-8 (東京ファッションタウン、東京).
43. 吉村典子、村木重之、岡敬之、馬淵昭彦、延與良夫、吉田宗人、雑賀明宏、鈴木隆雄、吉田英世、石橋英明、山本精三、川口造、中村耕三：一般住民における変形性関節症の有病率とその地域差：Research on Osteoarthritis Against Disability (ROAD) プロジェクト. 第 24 回日本骨代謝学会. 2006. 7.6-8 (東京ファッションタウン、東京).
44. 岡敬之、吉村典子、村木重之、馬淵昭彦、延與良夫、吉田宗人、雑賀明宏、川口造、中村耕三：ビタミン K 摂取不足は変形性関節症と関連する：ROAD (research on osteoarthritis against disability) プロジェクト山村部コホートにおける検討 (IOF-ANZBMS Travel Award 受賞). 第 24 回日本骨代謝学会. 2006. 7.6-8 (東京ファッションタウン、東京).
45. 村木重之、吉村典子、岡敬之、馬淵昭彦、鈴木隆雄、吉田英世、石橋英明、山本精三、川口造、中村耕三：変形性腰椎症の高位別有病率と腰痛との関連：ROAD (research on osteoarthritis against disability) プロジェクト都市部高齢者コホートにおける検討 (IOF-ANZBMS Travel Award 受賞). 第 24 回日本骨代謝学会. 2006. 7.6-8 (東京ファッションタウン、東京).
46. 村木重之、吉村典子、岡敬之、馬淵昭彦、延與良夫、吉田宗人、雑賀明宏、鈴木隆雄、吉田英世、石橋英明、山本精三、川口造、中村耕三：変形性膝関節症の重症度と膝痛との関連：ROAD (research on osteoarthritis against disability) プロジェクト都市部・山村部高齢者コホートにおける検討. 第 24 回日本骨代謝学会. 2006. 7.6-8 (東京ファッションタウン、東京).
47. 星和人、小笠原徹、浅輪幸世、高橋嗣明、鄭雄一、高戸毅、中村耕三、川口造：自家軟骨細胞から大量永久軟骨再生のための最適シグナル条件の系統的・網羅的検索. 第 24 回日本骨代謝学会. 2006. 7.6-8 (東京ファッションタウン、東京).
48. 斎藤琢、池田敏之、東川昌郎、鄭雄一、中村耕三、川口造：Hypoxia-inducible factor (HIF) ファミリー分子 HIF2A と ARNT は 10 型コラーゲンの転写・発現を誘導する. 第 24 回日本骨代謝学会. 2006. 7.6-8 (東京ファッションタウン、東京).
49. 井川和代、望月学、西村亮平、杉森理、清水康太郎、鈴木茂樹、大庭伸介、高戸毅、中村耕三、川口造、佐々木伸雄、鄭雄一：3 次元プリンターを用いたテーラーメイド人工骨の直接造形と移植試験. 第 24 回日本骨代謝学会. 2006. 7.6-8 (東京ファッションタウン、東京).
50. 川口造：Pathophysiological roles of prostaglandins in arthritic joints (シンポジウム：Basic and clinical evidence of prostaglandins in arthritic joints). 第 27 回 日本炎症・再生医学会. 2006. 7.11-12 (京王プラザホテル、東京).
51. 茂呂徹、高取吉雄、石原一彦、金野智浩、高玉博朗、山脇昇、京本政之、鄭雄一、中村耕三、川口造：生体適合性ポリマーと生体の相互作用 - 摩耗粉が骨吸収に与える影響の検討 - (ワークショップ：バイオマテリアルと生体の相互作用). 第 27 回 日本炎症・再生医学界会. 2006. 7.11-12 (京王プラザホテル、東京).
52. 川口造：変形性関節症の病態解明・治療の新世纪. 福島整形外科フォーラム(特別講演). 2006. 7. 13 (ホテル辰巳屋、福島).
53. 川口造、星和人、中村耕三：FGF-2 による骨癒合促進 -基礎から臨床へ- (シンポジウム：骨癒合の診断と利用可能な骨癒合促進法). 第 32 回日本骨折治療学会. 2006. 7.14-15 (仙台国際センター、宮城).
54. 川口造：運動器疾患の社会的ニーズ. 市民公開講座「聴いて効く！ひざのお話」. 2006.

8. 21 (全電通ホール、東京).
55. 川口浩: 変形性脊椎症・関節症の病態解明・治療の最前線. 第17回安比夏季セミナー. 2006. 8. 26-27 (ホテル安比グランド、岩手).
56. 川口浩: 骨強度と骨粗鬆症治療の最前線. 愛媛骨粗鬆症セミナー. 2006. 9. 1 (ホテル JAL シティ松山、愛媛).
57. 篠田裕介、緒方直史、東川晶郎、中村耕三、鄭雄一、川口浩: 副甲状腺ホルモンの骨形成および骨吸収促進作用の細胞・分子メカニズム (日本骨代謝学会・日本骨粗鬆症学会ジョイントシンポジウム: 骨粗鬆症基礎研究の過去、現在、未来). 第8回日本骨粗鬆症学会. 2006. 10. 12-14 (京王プラザホテル、東京).
58. 吉村典子、岡敬之、村木重之、川口浩、中村耕三: 男性骨粗鬆症: 骨折頻度と骨代謝マーカー値 (シンポジウム: 男性骨粗鬆症). 第8回日本骨粗鬆症学会. 2006. 10. 12-14 (京王プラザホテル、東京).
59. 村木重之、吉村典子、岡敬之、馬淵昭彦、石橋英明、山本精三、川口浩、中村耕三: 大腿骨頸部骨折男性例の生命予後 - 女性例との比較 - (シンポジウム: 男性骨粗鬆症). 第8回日本骨粗鬆症学会. 2006. 10. 12-14 (京王プラザホテル、東京).
60. 篠田裕介、緒方直史、東川晶郎、中村耕三、鄭雄一、川口浩: 副甲状腺ホルモン (PTH) は分化した骨芽細胞に作用し、骨髄前駆細胞による骨吸収および骨形成を促進する. 第8回日本骨粗鬆症学会. 2006. 10. 12-14 (京王プラザホテル、東京).
61. 河村直洋、釘宮典孝、門脇孝、中村耕三、鄭雄一、川口浩: Akt1 シグナルは FoxO3a、Bim の抑制を介して骨芽細胞のアポトーシスを阻害する. 第8回日本骨粗鬆症学会. 2006. 10. 12-14 (京王プラザホテル、東京).
62. 吉村典子、岡敬之、村木重之、馬淵昭彦、川口浩、中村耕三: 骨粗鬆症の有病率の推移と発生率の推定. 第8回日本骨粗鬆症学会. 2006. 10. 12-14 (京王プラザホテル、東京).
63. 吉村典子、村木重之、岡敬之、馬淵昭彦、延與良夫、吉田宗人、雑賀明宏、鈴木隆雄、吉田英世、石橋英明、山本精三、川口浩、中村耕三: 変形性関節症の有病率と患者数の推定: Research on Osteoarthritis Against Disability (ROAD) プロジェクト. 第8回日本骨粗鬆症学会. 2006. 10. 12-14 (京王プラザホテル、東京).
64. 村木重之、吉村典子、岡敬之、馬淵昭彦、延與良夫、吉田宗人、雑賀明宏、鈴木隆雄、吉田英世、石橋英明、山本精三、川口浩、中村耕三: 変形性関節症が膝痛へ与える影響 - 都市部と山村部での比較 - : ROAD (research on osteoarthritis against disability) プロジェクト. 第8回日本骨粗鬆症学会. 2006. 10. 12-14 (京王プラザホテル、東京).
65. 岡敬之、吉村典子、村木重之、馬淵昭彦、延與良夫、吉田宗人、雑賀明宏、川口浩、中村耕三: 変形性関節症と経口摂取栄養素との関連: ROAD (research on osteoarthritis against disability) プロジェクト山村部コホートにおける検討. 第8回日本骨粗鬆症学会. 2006. 10. 12-14 (京王プラザホテル、東京).
66. 川口浩、阿久根徹、緒方直史、川野健一、河野博隆、中村耕三: 老化による骨粗鬆化の分子メカニズム - マウスゲノミクスからのアプローチ -. 第21回日本整形外科学会基礎学術集会. 2006. 10. 19-20 (長崎ブリックホール、長崎).
67. 亀倉暁、川崎洋介、竹田秀、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 (OA) 発症の引き金となる. 第21回日本整形外科学会基礎学術集会. 2006. 10. 19-20 (長崎ブリックホール、長崎).
68. 篠田裕介、緒方直史、山田高嗣、鄭雄一、中村耕三、川口浩: KLF5 は骨格の発生・成長における軟骨内骨化の最終段階を制御している転写因子である. 第21回日本整形外科学会基礎学術集会. 2006. 10. 19-20 (長崎ブリックホール、長崎).
69. 川崎洋介、釘宮典孝、筑田博隆、中村耕三、鄭雄一、川口浩: cGKII は GSK3 $\beta$  をリン酸化・不活化することによって軟骨細胞の肥大分化を制御する. 第21回日本整形外科学会基礎学術集会. 2006. 10. 19-20 (長崎ブリックホール、長崎).
70. 茂呂徹、高取吉雄、石原一彦、京本政之、中村耕三、川口浩: ナノ表面処理による人工股関節の長寿命化. 第21回日本整形外科学会基礎学術集会. 2006. 10. 19-20 (長崎ブリックホール、長崎).
71. 丸山善治郎、古市達哉、川口浩、中村耕三、小守壽文: Runx2 は、骨芽細胞の分化を調節することにより骨の質を決定する. 第21回日本整形外科学会基礎学術集会. 2006. 10. 19-20 (長崎ブリックホール、長崎).
72. 篠田裕介、緒方直史、東川晶郎、中村耕三、鄭雄一、川口浩: PTH のターゲットは分化した骨芽細胞であり、独立したシグナルを介し



- て骨髄前駆細胞による骨吸収および骨形成を促進する. 第21回日本整形外科学会基礎学術集会. 2006. 10. 19-20 (長崎ブリックホール、長崎).
73. 小崎直人、高石官成、堀内圭輔、川口浩、中村耕三、戸山芳昭: 変形性関節症および関節リウマチにおけるMMP-13の役割. 第21回日本整形外科学会基礎学術集会. 2006. 10. 19-20 (長崎ブリックホール、長崎).
  74. 吉村典子、岡敬之、村木重之、馬淵昭彦、川口浩、中村耕三: 都市型および地方型コホートをを用いた中高年者における変形性関節症の有病率とその疫学的特性. 第21回日本整形外科学会基礎学術集会. 2006. 10. 19-20 (長崎ブリックホール、長崎).
  75. 村木重之、吉村典子、岡敬之、馬淵昭彦、川口浩、中村耕三: 大規模コホートにおける変形性膝関節症の有病率と膝痛への影響. 第21回日本整形外科学会基礎学術集会. 2006. 10. 19-20 (長崎ブリックホール、長崎).
  76. 村木重之、吉村典子、岡敬之、馬淵昭彦、川口浩、中村耕三: 腰椎椎間別における変形性腰椎症の有病率と腰痛への影響. 第21回日本整形外科学会基礎学術集会. 2006. 10. 19-20 (長崎ブリックホール、長崎).
  77. 菅哲徳、池田敏之、斎藤琢、中村耕三、川口浩、鄭雄一: II型コラーゲンプロモーターと未分化軟骨細胞株ATDC5を用いた軟骨分化蛍光リアルタイムモニタリングシステムの構築. 第21回日本整形外科学会基礎学術集会. 2006. 10. 19-20 (長崎ブリックホール、長崎).
  78. 岡敬之、吉村典子、村木重之、馬淵昭彦、川口浩、中村耕三: コンピュータによる変形性膝関節症X線画像自動読影システムの開発. 第21回日本整形外科学会基礎学術集会. 2006. 10. 19-20 (長崎ブリックホール、長崎).
  79. 池田敏之、斎藤琢、牛田正宏、中村耕三、川口浩、鄭雄一: SOX6プロモーターの同定と機能解析. 第21回日本整形外科学会基礎学術集会. 2006. 10. 19-20 (長崎ブリックホール、長崎).
  80. 星和人、鄭雄一、中村耕三、川口浩: 永久軟骨を再生させるための軟骨細胞再分化誘導法の検討と作用機序の解明. 第21回日本整形外科学会基礎学術集会. 2006. 10. 19-20 (長崎ブリックホール、長崎).
  81. 川口浩: 変形性関節症: その病態解明と治療の最前線. 第11回千葉リウマチ医の会. 2006. 10. 28 (ホテルミラマール、千葉).
  82. 川口浩: 変形性腰椎症、骨粗鬆症予防の社会的ニーズ. 市民公開講座「腰痛のことをもっと知ろう」. 2006. 11. 1 (北とぴあ、東京).
  83. 川口浩: 永久軟骨再生のための最適シグナルの系統的・網羅的検索 (シンポジウム: 関節再生・再建). 第34回日本リウマチ・関節外科学会. 2006. 11. 10-11 (朱鷺メッセ、新潟).
  84. 川口浩: マウスジェネティクスを用いた変形性関節症の分子メカニズムの解明. 東京大学生命科学ネットワークシンポジウム. 2006. 11. 25 (東京大学安田講堂、東京).
  85. 星和人、小笠原徹、鄭雄一、川口浩、中村耕三、高戸毅: インプラント型再生軟骨による永久軟骨再生の試み. 東京大学生命科学ネットワークシンポジウム. 2006. 11. 25 (東京大学安田講堂、東京).
  86. 吉村典子、村木重之、岡敬之、馬淵昭彦、川口浩、中村耕三: 大規模住民コホートによる変形性関節症の有病率の推定: Research on Osteoarthritis Against Disability (ROAD)プロジェクト. 東京大学生命科学ネットワークシンポジウム. 2006. 11. 25 (東京大学安田講堂、東京).
  87. 茂呂徹、高取吉雄、山本基、菊田達郎、石原一彦、金野智浩、京本政之、山脇昇、中村耕三、川口浩: 生体適合型ポリマーナノグラフを基盤とした長寿命型人工股関節の開発. 東京大学生命科学ネットワークシンポジウム. 2006. 11. 25 (東京大学安田講堂、東京).
  88. 鄭雄一、川口浩、高戸毅、中村耕三、佐々木伸雄、片岡一則: インテリジェント型運動器インプラントの開発. 東京大学生命科学ネットワークシンポジウム. 2006. 11. 25 (東京大学安田講堂、東京).
  89. 吉村典子、村木重之、岡敬之、馬淵昭彦、川口浩、中村耕三: 変形性関節症の有病率の推定: Research on Osteoarthritis Against Disability (ROAD)プロジェクトより. 日本疫学会. 2007. 1. 26-27 (広島).
  90. 川口浩: 骨粗鬆症: その病態解明と治療の最前線. 第457回甲府市内科医会. 2007. 1. 23 (古名屋ホテル、山梨).
  91. 石山典幸、茂呂徹、大江隆史、三浦俊樹、川口浩: 生体適合性ポリマーゲルのニワトリ腿損傷モデルにおける癒着防止効果学会名. 第50回日本手の外科学会学術集会. 2007. 4. 19-20 (山形国際ホテル、山形).



92. 川口浩:骨粗鬆症の病態解明と治療の最前線. 第14回 埼玉骨・関節疾患研究会. 2007. 2. 22 (パレスホテル大宮, 埼玉).
93. 川崎洋介, 釘宮典孝, 筑田博隆, 池田敏之, 斎藤琢, 矢野文子, 東川晶郎, 牛田正宏, 中村耕三, 鄭雄一, 川口浩: cGMP-dependent kinase II (cGKII)はglycogen synthase kinase 3 $\beta$  (GSK3 $\beta$ )をリン酸化・不活化することによって生体内で軟骨細胞の肥大分化を制御する. 第20回日本軟骨代謝学会. 2007. 3. 2-3(岡山コンベンションセンター, 岡山).
94. 菅哲徳, 池田敏之, 斎藤琢, 中村耕三, 鄭雄一, 川口浩: 軟骨分化蛍光リアルタイムモニタリング細胞株 ATDC5-S2RD5 の樹立と新規軟骨分化誘導因子 SNX19 の同定. 第20回日本軟骨代謝学会. 2007. 3. 2-3 (岡山コンベンションセンター, 岡山).
95. 岡敬之, 吉村典子, 村木重之, 馬淵昭彦, 延與良夫, 吉田宗人, 川口浩, 中村耕三: 変形性膝関節症と食生活習慣との関係: ROADプロジェクト山村部コホートにおける検討. 第20回日本軟骨代謝学会. 2007. 3. 2-3 (岡山コンベンションセンター, 岡山).
96. 吉村典子, 村木重之, 岡敬之, 馬淵昭彦, 延與良夫, 吉田宗人, 雑賀明宏, 鈴木隆雄, 吉田英世, 石橋英明, 山本精三, 川口浩, 中村耕三: 本邦における変形性膝関節症および変形性腰椎症の有病率: Research on Osteoarthritis Against Disability (ROAD)プロジェクト. 第20回日本軟骨代謝学会. 2007. 3. 2-3(岡山コンベンションセンター, 岡山).
97. 馬淵昭彦, 村木重之, 岡敬之, 吉村典子, 川口浩, 中村耕三: 日本人における変形性膝関節症感受性遺伝子の関連解析. 第20回日本軟骨代謝学会. 2007. 3. 2-3 (岡山コンベンションセンター, 岡山).
98. 斎藤琢, 池田敏之, 東川昌郎, 矢野文子, 鄭雄一, 中村耕三, 川口浩: Hypoxia-inducible factor (HIF)ファミリー分子 HIF2 $\alpha$ とARNTは10型コラーゲンの転写・発現を誘導する. 第20回日本軟骨代謝学会. 2007. 3. 2-3 (岡山コンベンションセンター, 岡山).
99. 篠田裕介, 緒方直史, 真鍋一郎, 山田高嗣, 釘宮典孝, 鄭雄一, 永井良三, 中村耕三, 川口浩: 転写因子 KLF5 による軟骨内骨化の制御とそのメカニズム. 第20回日本軟骨代謝学会. 2007. 3. 2-3 (岡山コンベンションセンター, 岡山).
100. 岡敬之, 吉村典子, 村木重之, 馬淵昭彦, 川口浩, 中村耕三: 変形性膝関節症 X線画像自動読影システムの開発とその信頼性. 第20回日本軟骨代謝学会. 2007. 3. 2-3 (岡山コンベンションセンター, 岡山).
101. 村木重之, 吉村典子, 岡敬之, 馬淵昭彦, 延與良夫, 吉田宗人, 雑賀明宏, 鈴木隆雄, 吉田英世, 石橋英明, 山本精三, 川口浩, 中村耕三: 変形性関節症が痛みに及ぼす影響: ROADプロジェクト. 第20回日本軟骨代謝学会. 2007. 3. 2-3 (岡山コンベンションセンター, 岡山).
102. 清水禎則, 麻生義則, 伊藤聡一郎, 鄭雄一, 川口浩, 四宮謙一, 宗田大: 破骨細胞形成抑制因子 (OCIF/OPG) の関節内投与は軟骨細胞のアポトーシスを介して変形性関節症の進行を阻害する. 第20回日本軟骨代謝学会. 2007. 3. 2-3(岡山コンベンションセンター, 岡山).
103. 川口浩:骨粗鬆症の病態解明と治療の最前線. 第3回 世田谷骨・関節疾患研究会. 2007. 3. 6 (セルリアンタワーホテル, 東京).
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 組織癒着・関節拘縮防止材  
 発明者: 中村耕三, 川口浩, 茂呂徹, 石原一彦, 木村美都奈  
 権利者: 中村耕三, 川口浩, 茂呂徹, 石原一彦, 木村美都奈  
 番号: 特願 2005-243984  
 取得年月日: 未  
 出願先: 日本
2. 低摩耗性摺動部材及びそれを用いた人工関節  
 発明者: 京本政之, 二塚健, 石原一彦, 金野智浩, 中村耕三, 高取吉雄, 川口浩, 茂呂徹, 橋本雅美  
 出願者: 日本メディカルマテリアル株式会社, 石原一彦, 金野智浩, 中村耕三, 高取吉雄, 川口浩, 茂呂徹  
 特願: 2006-338601  
 出願日: 2006. 12. 15

## 変形性関節症の標的分子の解明（2）：LCMによるヒト OA 軟骨の解析

分担研究者 福井 尚志（国立病院機構相模原病院臨床研究センター研究部長）

研究要旨：昨年度までの解析により変形性関節症に罹患した関節軟骨（OA 軟骨）では軟骨変性部の近傍で軟骨基質の発現が低下していることが明らかになった。この機序を知る目的で OA 軟骨の各部位における SOX 5、6、9 と軟骨基質の mRNA 発現の関連を検討したところ、SOX9 と II 型コラーゲン、アグリカン、リンクプロテインの発現がいずれも有意に関連していることが明らかになった。また OA における軟骨基質の変性・消失の機序を明らかにする目的で OA 軟骨における 3 種のタンパク分解酵素（MMP-3、MMP-13、ADAMTS5）と 3 種の TIMP（TIMP 1、2、3）の発現を検討した。OA 軟骨において TIMP の発現は大きく変化していなかったのに対し MMP-13 の発現は顕著に亢進していた。一方 ADAMTS5 の発現は明らかな変化を示さず、また MMP-3 の発現は OA 軟骨において有意に低下していた。これらの結果は OA 罹患軟骨における anabolic および catabolic な変化を考えるうえで有用な基礎的知見となるものと思われる。

### A. 研究目的

変形性関節症（OA）における軟骨の病変は部位によって大きく異なるという特徴がある。われわれはこの点に着目し、レーザー・キャプチャー・マイクロダイセクション（LCM）を用いて OA に罹患した関節軟骨（以下 OA 軟骨）における遺伝子発現を部位ごとに検討してきた。

昨年度までの研究により OA 軟骨において軟骨細胞の基質産生は大きく変化しており、特に軟骨変性部では軟骨細胞が本来発現している軟骨基質の構成要素の遺伝子発現が低下し、逆に正常軟骨では発現がほとんど見られない病的な遺伝子の発現が誘導されていることが明らかになった。しかし現在までのところ OA 軟骨において軟骨基質の発現を変化させる機序は明らかにされていない。

一方、OA における軟骨の変性には種々のタンパク分解酵素が関与することが知られており、なかでも MMP-13 や ADAMTS5 などのメタロプロテアーゼは軟骨変性において中心的な役割を果たすとされる。一方 *in vivo* においてこれらのタンパク分解酵素の活性は tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP) によって制御されている。したがって OA 軟骨の変性を考える場合、プロテアーゼの発現とともに TIMP の発現も考慮する必要がある。

以上から、本年度は以下の 2 つを目的として研究を行った。第一は OA 軟骨において軟骨基質の発現を変化させる機序を明らかにすることで、このために軟骨分化の際に中心的な役割を果たす SOX5、6、9 の 3 つの転写因子と軟骨基質の発現の関連を検討した。目的の第二は OA 軟骨にお

ける主要なタンパク分解酵素と TIMP の発現を部位別に明らかにすることで、このために OA および対照軟骨において MMP-3、MMP-13、ADAMTS5 と TIMP1、2、3 の発現を検討した。

### B. 研究方法

人工膝関節置換術の際に末期 OA 膝関節 53 関節より採取した OA 罹患軟骨（平均年齢 73 歳）を用い、関節疾患の既往のない年齢同等の剖検例において肉眼的に異常所見を認めない膝関節 14 関節より採取した軟骨（平均年齢 78 歳）をこの対照として用いた。軟骨は OA 例、対照例とも大腿骨顆部から得たが、OA 関節の場合、それぞれの関節において軟骨を変性の程度の異なる部位 2~5 ヶ所から採取した。得られた軟骨は採取直後に OCT コンパウンドに包埋して液体窒素で凍結し、解析まで -80° C で保存した。

実際の解析では検体から 40~60・m の厚さの凍結切片を作成し、これを EDTA、エタノール、キシレンで処理したのち LCM 装置（PixCell IIE, Arcuturus 社）を用い、軟骨変性の有無とその程度を考慮した上で関節軟骨を浅層、中間層、深層の 3 層に分離し、それぞれの層から RNA を抽出、cDNA を合成し、real-time PCR により種々の遺伝子の発現を定量的に解析した。

（倫理面の配慮）

本研究は所属施設の倫理委員会の承認を得て行った。検体の採取は OA 軟骨については本人に、対照軟骨採取の場合は遺族に対し、研究の目的、研究参加に伴う利益・不利益の有無、研究不参加が患者または遺族に対してなんの不利益もたらさないこと、得られた個人情報保護および使



途、研究参加の取りやめなどについて書面をもって説明したのち、研究参加の同意を書面により得て行った。検体の解析は連結可能な形で匿名化して行い、個人情報情報は情報管理者を設定して管理した。

### C. 結果

#### 1. 軟骨基質と SOX 遺伝子の mRNA 発現の関連

軟骨基質の主要な構成要素である II 型コラーゲン、アグリカン、リンクプロテインと SOX5, 6, 9 の mRNA の発現を OA 軟骨のさまざまな部位において定量的に評価し、両者の発現レベルの関連を検討した。SOX5、6 と II 型コラーゲン、アグリカン、リンクプロテインの間には発現レベルの有意の関連が見られなかったのに対し、SOX9 と II 型コラーゲン、アグリカン、リンクプロテインの間にはいずれも発現レベルの有意の相関が観察された (図 1)。SOX9 の発現との関連の程度は II 型コラーゲンがもっとも弱く ( $r = 0.270$ ,  $P = 0.013$ )、アグリカンが最も強かった ( $r = 0.627$ ,  $P < 0.001$ )。また SOX5 と SOX6、SOX5 と SOX9 の間にもそれぞれ発現の有意の相関が観察された ( $r = 0.527$ ,  $P < 0.001$ ;  $r = 0.468$ ,  $P = 0.001$ )。

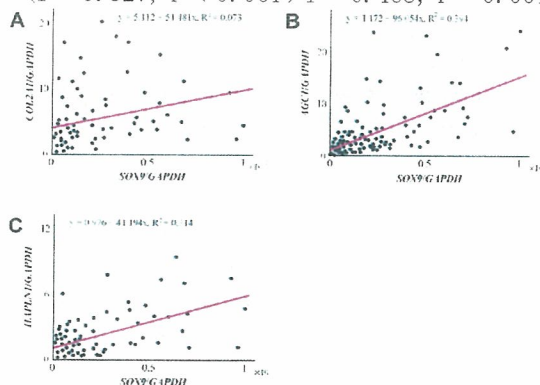


図 1. OA 軟骨中における SOX9 と II 型コラーゲン (A)、アグリカン (B)、リンクプロテイン (C) の関連を示す。

#### 2. OA および対照軟骨におけるタンパク分解酵素と TIMP の発現

タンパク分解酵素として MMP-3、MMP-13、ADAMTS5 の 3 つに着目し、これらの発現を OA 軟骨と対照軟骨において部位ごとに検討した。意外なことに MMP-3 の発現は OA 軟骨のすべての領域において正常軟骨より顕著に低下していた (図 2 A)。これに対して MMP-13 は OA 軟骨のすべての領域で有意に亢進していた (図 2 B)。OA 軟骨における MMP-13 の発現は部位によって異なっており、軟骨基質の変性が始まってはいるが軟骨浅層がまだ保たれている領域において最も高い発現が観察された。一方 ADAMTS5 の発現は OA 軟骨にお

いても大きく変化しておらず、肉眼的な非変性部においてはむしろ対照軟骨より有意に低下しているという結果が得られた (図 2 C)。検討を行った 3 種の TIMP については OA 軟骨において発現が大きく変化しているものはなかった (図 2 D-F)。

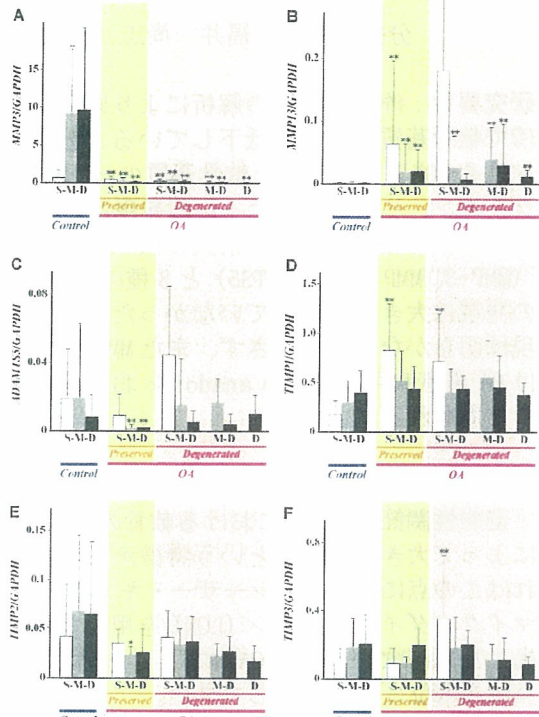


図 2. 対照および OA 軟骨における MMP-3 (A)、MMP-13 (B)、ADAMTS5 (C)、TIMP1 (D)、TIMP2 (E)、TIMP3 (F) の発現をそれぞれ示す。グラフにおいて白、灰、黒色のバーはそれぞれ軟骨の浅層、中間層、深層を示す。\* および \*\* は対照軟骨の対応する層に対して  $P < 0.05$  および  $P < 0.01$ 。

### D. 考察

われわれは前年度までの研究において OA 軟骨では軟骨変性部近傍で軟骨基質の発現が低下しており、これが OA の進行機序の一つである可能性を明らかにしてきた。軟骨変性部において低下した軟骨基質の発現を回復させることができれば、OA の進行を抑止することができるかもしれない。今回の検討から変性部近傍における軟骨基質、特にアグリカンとリンクプロテインの発現の低下には SOX9 の発現低下が有意に関連していることが明らかになった。したがって OA 軟骨変性部における SOX9 の発現亢進は OA の進行抑止を考える場合、治療戦略の選択肢の一つとなりうると考えられた。

またタンパク分解酵素の発現の検討から、OA 罹患軟骨では TIMP の発現は大きく変化しないにもかかわらず MMP-13 の発現が強く誘導されていることが明らかになった。MMP-13 はコラーゲナー

ぜ活性を持つ3種のMMPの中で3本鎖構造をとるII型コラーゲンを最も効率よく分解することが知られている。したがってOA軟骨におけるMMP-13の発現亢進は、軟骨基質のコラーゲン線維網の分解にこの酵素が実際に大きく関わっている可能性を示唆するものである。一方、OA罹患軟骨においてADAMTS5の発現レベルが大きく変化していないこととMMP-3の発現が低下していたことは、OAにおける軟骨変性がタンパク分解酵素の発現亢進という単純な図式だけでは説明しきれないことを意味しているのかもしれない。

今回の検討においてMMP-13の発現が軟骨変性部近傍で特に顕著であったことと前年度までの研究結果を考え合わせると、OAにおける軟骨基質の喪失にはやはり軟骨変性部近傍における軟骨細胞の挙動が大きな意義を持つと考えられる。このためわれわれは現在OA軟骨において変性部近傍と肉眼的な軟骨非変性部からそれぞれRNAを採取し、マイクロアレイを用いて2つの部位における軟骨細胞の遺伝子発現プロファイルの対比を行っている。この解析によってOAにおける軟骨変性の新たな機序が明らかにされることが期待される。

#### E. 結論

OA軟骨において軟骨基質を構成する分子の発現は変性部近傍で低下する傾向があるが、これはSOX9の発現低下と関連していた。またOA軟骨ではTIMPの発現が大きく変化しない一方でMMP-13の発現は顕著に亢進しており、これが軟骨変性をもたらす要因であると推察された。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Fukui N, Ikeda T, Ohnuki T, Tanaka S, Yamane S, Suzuki R, Sandell LJ, Ochi T. TNF-alpha induces the expression of BMP-2 through transcriptional and post-transcriptional regulatory mechanisms. *J Biol Chem* 281:27229-41, 2006.
  2. Fukui N and Sandell LJ. Anabolic aspects of cartilage repair. *Topics in Bone Biology. In Bone and Osteoarthritis. Vol. 4.* Bronner F and Farach-Carson M Eds. (in press)
  3. 福井尚志. 変形性関節症の病態: Overviewと最近の知見. 変形性関節症の病態解明・診断・治療の新世紀. 日本整形外科学会雑誌 81:5-16, 2007..
  4. 福井尚志. 変形性関節症の発症原因. シンポジウム 変形性関節症—最近の進歩. 臨床整形外科 42: 17-22, 2007.
  5. 福井尚志. 変形性関節症の進行機序に関する最近の知見. 関節外科 (in press)
- ##### 2. 学会発表
1. Fukui N, Ikeda Y, Ohnuki T, Tanaka N, Hikita A, Yamane S, Suzuki R, Ochi T, Katsuragawa Y, Yamamoto S. Integrin  $\alpha 5$  may be responsible for the suppression of cartilage matrix genes and formation of cytoskeletons during dedifferentiation in the monolayer cultured adult human articular chondrocytes. 2006 World Congress on Osteoarthritis. Prague, Czech Republic. December, 2006.
  2. 福井尚志. OA罹患軟骨における基質産生の障害: レーザー・マイクロダイセクションによる解析結果から. シンポジウム 変形性関節症: up to date. 第50回日本リウマチ学会総会. 2006年4月、長崎.
  3. 福井尚志. 変形性関節症の病態: Overviewと最近の知見. シンポジウム「運動器の10年」変形性関節症の病態解明・診断. 治療の新世紀. 第79回日本整形外科学会学術総会. 2006年5月、横浜.
  4. 福井尚志. 変形性関節症の進行機序に関するわれわれの知見. 第11回日本関節症研究会学術集会. シンポジウム 変形性関節症発症因子の最近のトピックス. 2006年5月、東京.
  5. 福井尚志. 変形性関節症における軟骨細胞の機能障害と保存療法の可能性. イブニングセミナー 変形性関節症の基礎と臨床. 第24回日本骨代謝学会学術集会. 2006年7月、東京.
  6. 福井尚志, 池田泰子, 大貫俊幸, 桂川陽三, 山本精三, 越智隆弘.  $\alpha 5 \beta 1$  インテグリンは単層培養された関節軟骨細胞の脱分化に関与する. 第21回日本整形外科学会基礎学術集会. 2006年10月、長崎.
  7. 福井尚志, 池田泰子, 大貫俊幸, 疋田温彦, 田中信帆, 桂川陽三, 山本精三, 鈴木隆二, 越智隆弘. 単層培養された関節軟骨細胞の表現型の変化におけるインテグリンの関与について. 第20回軟骨代謝学会. 2007年3月、岡山.