

- Osteoarthritis, magnetic resonance imaging, and biochemical markers: a one year prospective study. *Ann Rheum Dis.* 2006; 65: 1050-4.
- 6) Sasho T, Wada Y, Suzuki M, et al. Irregularity of medial femoral condyle on MRI is an indicator for assessing disease severity of medial-type osteoarthritic knee. *Trans ORS* 2004; 29: 1012.
 - 7) Lee MK, Tuttle JB, Rebhun LL, et al. The expression and posttranscriptional modification of a neuron-specific beta-tubulin isotype during chick embryogenesis. *Cell Motil Cytoskeleton* 1990; 17: 118-32.
 - 8) Shibakawa A, Yudoh K, Masuko-Hongo K, et al. The role of subchondral bone resorption pits in osteoarthritis: MMP production by cells derived from bone marrow. *Osteoarthritis Cartilage* 2005; 13: 679-87.
 - 9) Moriya H, Sasho T, Sano S, et al. Arthroscopic posteromedial release for osteoarthritic knees with flexion contracture. *Arthroscopy* 2004; 20: 1030-9.
 - 10) Smith MD, Trianta ES, Parker A, et al. Synovial membrane inflammation and cytokine production in patients with early osteoarthritis. *J Rheumatol* 1997; 24: 365-71.
 - 11) Arnoldi CC, Djurhuus JC, Heerfordt J, et al. Intraosseous phlebography, intraosseous pressure measurements and ^{99m}Tc-polyphosphate scintigraphy in patients with various painful conditions in the hip and knee. *Acta Orthop Scand* 1980; 51: 19-28.
 - 12) Saito T, T Koshino. Distribution of neuropeptides in synovium of the knee with osteoarthritis. *Clin Orthop* 2000; 376: 172-82.

変形性関節症の病態 —Overview と最近の知見—*

福井 尚志†

はじめに

変形性関節症 (osteoarthritis: OA) は運動器領域の代表的な common disease であるが、現在のところ疾患の進行を抑制し、その自然経過を変えうる有効な治療法は確立されていない。これは病態の解明がいまなお不十分であることに関連している。本稿では OA の病態に関する現在までの理解を最近の知見を中心に概説する。OA の病態は発症に至る過程と、いったん発症した後の疾患の進行の過程で大きく異なる。このためここでは OA の病態を発症と進行という2つの局面に分けて扱う。

I. OA の発症機序

OA の発症機序を考えるために、疫学的研究によって明らかになった疾患発症の危険因子について検討してみたい。従来の疫学的研究の結果から、OA の発症に関与する明確な危険因子として年齢、体重、性、外傷や関節炎の既往、の4つが明らかになっている^{1),2)}。以下にこのうち年齢、肥満、性の3つの要因について OA の発症とどのような関連があるのか、現在までの知見をまとめる。

1. 年齢

年齢は OA 発症の最大の危険因子である。したがって OA の発症には関節の構成要素の年齢に伴う変化が大きく関与すると考えられる。滑膜関節では軟骨細胞、軟骨基質、骨、半月、靭帯、関節包について年齢に伴う変化が知られており、また筋力、反射やプロプリオ

セプションといった神経機能も年齢とともに変化する。このうち軟骨細胞と軟骨基質の変化が OA の発症にもっとも関連が深いと考えられる。

(1) 軟骨細胞における変化

軟骨細胞は軟骨基質中に存在する唯一の細胞である。軟骨基質の代謝は軟骨細胞によって担われており、軟骨細胞の機能の変化は軟骨基質の性状を変えることによって OA の発症に関与する。

軟骨細胞は年齢とともに基質産生能が低下することが知られている^{3),4)}。これは成長因子に対する応答性が年齢とともに低下することによるのかもしれない。従来の研究によって高齢個体から採取した軟骨細胞は insulin-like growth factor-1 (IGF-1)^{5),6)}, platelet-derived growth factor⁷⁾, transforming growth factor- β (TGF- β)^{8),9)} に対する反応が低下し、基質産生の亢進が起こりにくくなっていることが知られている。このうち IGF-1 に対する反応性の低下は IGF 結合タンパクの増加が原因である可能性がある⁵⁾。ちなみに OA 罹患軟骨において軟骨細胞の IGF-1 に対する反応はさらに低下しているが、これにも IGF 結合タンパクの発現亢進が関与している¹⁰⁾。

軟骨細胞はまた加齢とともに機械的刺激に対する応答性が変化する。軟骨細胞は力学的な負荷に対してきわめて敏感な細胞であり、若年個体から得られた正常な軟骨細胞の場合、関節内で加わる荷重に近い大きさの力学的負荷を周期的に加えることで基質産生が増加する。しかし老化した個体から得られた軟骨細胞では同じ負荷を与えても基質の産生はむしろ抑制されることが報告されている¹¹⁾。

加齢に伴い、軟骨細胞は catabolic なレスポンスを起こしやすくなることも知られている。たとえばマウスにおいて高齢個体の軟骨細胞は炎症性サイトカインに対する反応がより長期間持続することが報告されてい

Key words: Osteoarthritis, Onset, Progression

*Pathology of Osteoarthritis: An Updated Overview

†国立病院機構相模原病院臨床研究センター。Naoshi Fukui: Clinical Research Center, National Hospital Organization Sagami Hospital

る¹²⁾。ヒトでも同様に、高齢者から採取した軟骨細胞は若年者の細胞に比べ catabolic な刺激を与えた場合に matrix metalloproteinase-13 (MMP-13) の産生がより顕著に起こる¹³⁾。こういった catabolic な反応の亢進のため、高齢者から採取した関節軟骨では OA 変化が見られなくても、II 型コラーゲンを分解する MMP-1 と MMP-13 の発現が亢進している¹⁴⁾。関節軟骨では OA 変化が生じていなくても変性した II 型コラーゲンが年齢とともに徐々に増加し、OA 発症の基盤となっている可能性がある^{14),15)}、これはこれらの MMP の発現亢進と関連があるのかもしれない¹⁴⁾。また高齢者の軟骨細胞では OA 変化がなくても nitric oxide (NO) の産生が若年者の数倍に及んでいる^{16),17)}。NO は後述するように軟骨細胞に対してアポトーシスを引き起こし、また軟骨基質の産生も障害するため、これも OA 発症の誘因となっている可能性がある。軟骨基質中の軟骨細胞は軟骨に病変が生じなくても加齢に伴って細胞密度が減少する¹⁸⁾。細胞のアポトーシスがこの一因と考えられているが、これも加齢に伴う NO の産生亢進によるのかもしれない。

このように軟骨細胞には加齢に伴ってさまざまな変化が生じており、これが OA の発症に直接、間接に関連していると考えられる。一方、関節軟骨を構成する基質自体にも加齢によって明らかな変化が生じ、これはまた別の次元で OA 発症の原因となっている。

(2) 軟骨基質における変化

軟骨基質は II 型コラーゲンを中心とするコラーゲンと、アグリカンをはじめとするプロテオグリカンによって構成される。軟骨基質の特徴のひとつは他の組織と比べてマトリクスの代謝回転がきわめて遅いことである。関節軟骨中のアグリカンは半減期が 20 年前後¹⁹⁾とされ、II 型コラーゲンについては半減期はじつに 100 年以上と報告されている²⁰⁾。このように長期間体内に存在する間にマトリクスを構成する分子はさまざまな修飾、変性を受け、その性質を変えていく。これらの分子の変化は軟骨基質の特性を変えることで直接 OA 発症の引き金となりうるし、軟骨細胞に影響を与えることで間接的にも OA 発症の原因となる。

II 型コラーゲンは関節軟骨にもっとも多量に含まれるマトリクス分子で、軟骨の乾燥重量のおよそ 60% を占める。II 型コラーゲンはコラーゲンに特徴的な 3 本鎖構造をとることもあってタンパク分解酵素に対して比較的安定であり、半減期が非常に長いにもかかわらず、

後述するアグリカンのように加齢に伴って分子の切断が生じることはない。代わりに見られるのが翻訳後修飾の蓄積である。翻訳後修飾にはさまざまな種類があるが、なかでも病的意義が最も大きいのが advanced glycation end product (AGE: 最終糖化反応物) の形成である。軟骨基質中には加齢に伴って数種の AGE があらわれる。このうちペントシジンは分子間に不可逆的に架橋を形成するため、その形成によって軟骨基質は硬く脆くなる^{21),22)}。こういった基質の物性の変化が OA の発症に関与している可能性がある²³⁾。

AGE の形成は単に軟骨基質の物性を変える以上の意義を持つ。一般に形成された AGE はこれを認識する受容体 (receptors for AGEs; RAGE) を介して種々の細胞にさまざまな反応を引き起こすことが知られている。滑膜関節では軟骨細胞と滑膜細胞に RAGE が発現している²⁴⁾。このため基質中に形成された AGE はこれらの細胞において炎症性サイトカインや MMP の産生を誘導し、II 型コラーゲンやプロテオグリカンの産生を抑制する^{24),25)}。コラーゲン分子に蓄積される AGE は、このような変化を通じて OA 発症の誘因となっていると考えられる。

軟骨基質のもう一方の主役であるアグリカンについても、年齢の増加に伴う明らかな変化が観察される (図 1)。アグリカンの場合、加齢に伴って分子サイズの顕著な減少が観察される^{19),26)-29)}。この理由はおもにアグリカンのコア・プロテインが直鎖状であって種々のタンパク分解酵素の作用を受けやすいことにある (図 1)。アグリカンは軟骨内でヒアルロン酸に結合して存在するが、分子の短縮が起こってもアグリカンはヒアルロン酸と結合したまま残り、基質内から取り除かれにくいことも加齢に伴うアグリカンの分子量の低下を助長する。正常なアグリカン分子は分子のカルボキシル端に近い領域にコンドロイチン硫酸が多数結合している。この側鎖が強い負の電荷を帯びているためにアグリカンはイオンや水分子をひきつけ、自身の体積の数十倍もの空間を占めることができる。このようなアグリカンの特性は軟骨の弾性保持の上できわめて重要である。加齢に伴うアグリカン分子の短縮はカルボキシル端から起こっていくため、高齢者の軟骨ではこの空間占拠能力を失ったアグリカン分子が増加していることになる。これは高齢者の関節軟骨で弾性が低下する主な原因と考えられている。

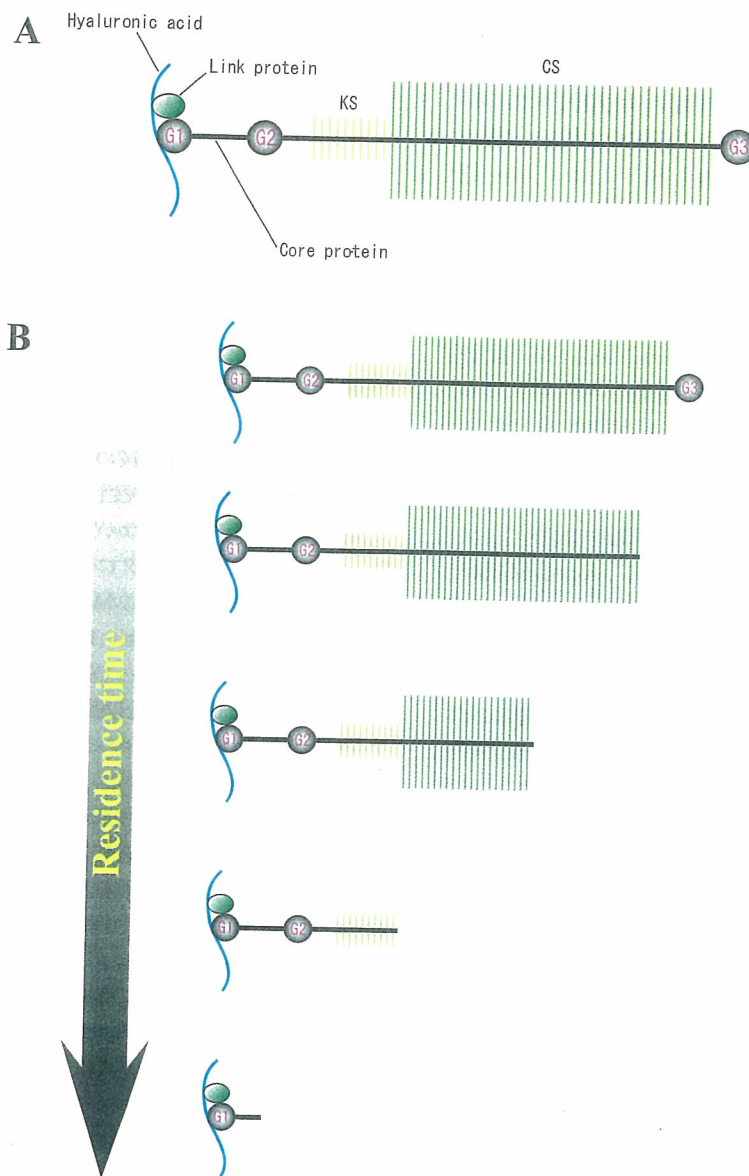


図1 アグリカン分子の構造と加齢に伴う変化¹⁹⁾。(A)アグリカン分子はおよそ2400のアミノ酸からなる直鎖状のコア・プロテインにケラタン硫酸(KS)とコンドロイチン硫酸(CS)の側鎖が多数結合した構造を持つ。コア・プロテインには3つの球状領域があり、アミノ端から順にG1, G2, G3と呼ばれる。軟骨においてアグリカンはG1領域でヒアルロン酸に結合しており、この結合はリンク・プロテインによって補強される。(B)アグリカンは加齢に伴ってカルボキシル端が切断された、分子量の小さな分子が増えていく。65歳では関節軟骨中の切断を受けていないアグリカン分子の比率は新生児のわずか8%しかない²⁶⁾。アグリカンの断片は短いものほど組織内の存在期間が長いという事実から²⁹⁾、軟骨中でアグリカン分子は時間の経過とともに繰り返し切断を受け、次第に分子量を減じていくと考えられる。切断されたカルボキシル端側の断片は切断後速やかに軟骨基質から失われるが、アミノ端側の断片はヒアルロン酸との結合部位を含むため、分子の切断が生じたあとも長期間基質内に残ることになる。

2. 肥 満

肥満は膝関節において OA 発症の明らかな危険因子であり^{30),31)}、股関節でも OA 発症の危険因子である可能性がある^{32),33)}。肥満と OA との関連は従来、関節に加わる荷重の増加によると考えられてきた。しかし肥満者では手指の関節のような非荷重関節においても OA の発症率が高いことがわかり^{2),34),35)}、肥満と OA の関連は単純な荷重の変化だけではないことが明らかになってきた。肥満者における OA の発症には脂肪組織で産生される adipokine と呼ばれるサイトカインに似た作用を持つ物質が関与している可能性が示されている。Adipokine の 1 種 leptin は OA との関連がとくに注目されている物質である。肥満者において関節液中の leptin の濃度は肥満度に関連して上昇する傾向があったこと、動物実験において leptin を関節内に投与したところ OA 様の変化が生じたことから、leptin は肥満と OA の発症を関連付ける因子と考えられている³⁶⁾。実際 OA 罹患関節で leptin は軟骨、滑膜、骨棘で産生されており、このため OA 関節の関節液中に高い濃度で存在する^{37),38)}。しかし leptin が OA の病態で実際にどの程度の重要性を持つのかについては、なお今後の研究を待たなくてはならない。肥満傾向のある者では一定以上の減量を行うことで OA の発症率、進行速度は明らかに減少する。このような減量の治療効果も一部は leptin の産生低下によるものなのかもしれない³⁶⁾。

3. 性 差

OA の罹患率には明らかな性差がある。膝関節の場合女性の OA 罹患率は同年代の男性の 1.7 倍であるとされ、膝以外の関節についても同様の性差が報告されている³⁹⁾。疫学的研究によって女性では閉経後に OA の発症が急増すること⁴⁰⁾、ホルモン補充療法を受けた女性では膝および股関節における OA の発症が減少すること^{41),42)}が明らかにされ、またエストロゲン受容体の遺伝子多型が OA の発症と有意に関連することからも⁴³⁾、性差の原因は主にエストロゲンにあると考えられている。事実、最近の研究では内因性エストロゲンのレベルが低い女性では膝関節の OA の発症率が有意に高い傾向があることが報告されている⁴⁴⁾。

In vitro の実験からエストロゲンは軟骨細胞の基質産生能を亢進させることによって OA の発症を軽減している可能性が示されている^{45),46)}が、しかし実際にエストロゲンがどのような機序で OA の発症を抑えているのかについては、まだ明確な結論が得られていない。エ

ストロゲンの OA 発症抑制効果は比較的弱く、有害な作用もあるために OA の発症予防の目的でのエストロゲンの投与は実際には行われていない。

II. OA の進行機序

次に OA が発症したあとの進行のメカニズムについて述べる。OA では軟骨、滑膜、骨などさまざまな組織に変化が見られ、それぞれが疾患の進行に重要な役割を果たしているが、本稿では関節軟骨の変性、消失に焦点を当て、現在までに明らかになっている疾患の進行機序を 5 つの観点から概説する。

1. OA における軟骨基質の変性の機序

OA における軟骨基質の変性・喪失には多くのタンパク分解酵素が関与する。なかでも活性の発現に 2 価金属イオンを必要とするマトロプロテアーゼ類が重要で、軟骨基質の分解は主に MMP, a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin-like repeat (ADAMTS) によって進められると考えられている。実際、OA に罹患した関節では多種のマトロプロテアーゼが発現されており、今までに MMP-1,2,3,7,8,9,13, MT1-MMP, ADAMTS-4,5 (aggrecanase-1,2) について OA 罹患関節での発現亢進が報告されている⁴⁷⁾⁻⁵¹⁾。

II 型コラーゲンは軟骨基質の最も重要な構成要素である。前述のように 3 本鎖構造をとっているため一般にタンパク分解酵素による分解を受けにくいですが、MMP-1,8,13 (collagenase-1,2,3) は 3 本鎖の II 型コラーゲンをカルボキシル端から 1/4 の部分で切断することができる。このためこれらの酵素は軟骨基質内のコラーゲン線維網の分解の主役と考えられている。このうち MMP-13 は MMP-1 のおよそ 5-10 倍の効率で II 型コラーゲンを分解するため、軟骨変性においてとくに重要な役割を果たしていると考えられる⁵²⁾⁻⁵⁴⁾。実際に MMP-13 の発現は OA の進行に伴って亢進することが報告されている^{52),55)}。

軟骨基質の構成要素であるアグリカンのコア・プロテインは、前述のすべての MMP によって一定の場所で切断される⁵⁶⁾(図 2)。しかし OA 患者の関節液中のアグリカンの断片の多くは MMP による切断箇所とは別の部位で切断を受けていることから^{57),58)}、OA におけるアグリカンの分解には MMP 以外のタンパク分解酵素が関与しているものと推定され、同定されるより先に aggrecanase と名付けられた。この酵素は同定までに時間を要したが、1999 年になって MMP とは別のメタ

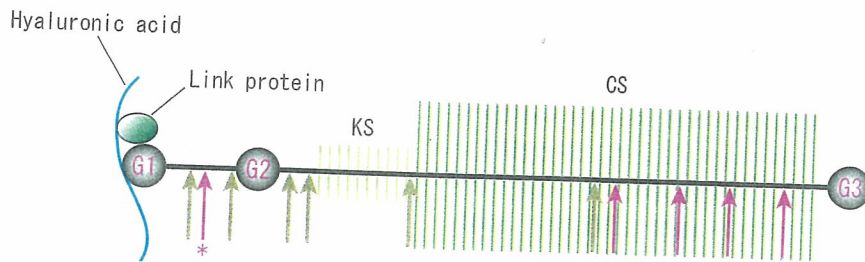


図2 MMPおよび aggrecanase によるアグリカン分子の切断⁶¹⁾. MMP, aggrecanase はともにアグリカン分子のコア・プロテインを複数の箇所切断する. 図中, 茶色の矢印は MMP の切断部位を, 赤色の矢印は aggrecanase の切断部位を示す. Aggrecanase の存在は G1, G2 の間で切断されたアグリカン断片の関節液中の存在により予想された(*).

ロプロテアーゼ群である ADAMTS family に属する ADAMTS-4,5 であることが明らかにされた⁵⁹⁾⁻⁶¹⁾. 前述の経緯からこれらの酵素はそれぞれ aggrecanase-1,2 と呼ばれている. ADAMTS-4 よりも ADAMTS-5 が OA 軟骨における発現量が多く, 病的な意義が大きいと考えられており⁵¹⁾, 実際遺伝子欠損マウスを用いた解析でも, ADAMTS-4 の欠損は OA モデルにおいて病態の進行を大きく変えなかったのに対し⁶²⁾, ADAMTS-5 のノックアウトマウスでは OA の進行が顕著に抑制された⁶³⁾. Aggrecanase の活性の抑制は OA の進行を抑止する上できわめて有効である可能性があり, 今後の研究の進展が期待される.

軟骨は II 型コラーゲンやアグリカン以外にもさまざまな分子によって構成されるが, これらの分子は多くが MMP により分解される⁵⁶⁾. したがって OA において MMP は II 型コラーゲンやアグリカン以外の基質分子の変性にも深く関与すると考えられる.

2. タンパク分解酵素の発現の機序

OA においてこれらのタンパク分解酵素はどのようなメカニズムによって誘導されるのであろうか. MMP や aggrecanase は第 1 に IL-1 β や TNF- α などの炎症性サイトカインによって誘導される. これらの炎症性サイトカインは OA 関節内に発現し, 軟骨細胞の基質産生を抑制するとともにタンパク分解酵素の発現を促すことによって軟骨基質の喪失をもたらす. OA で軟骨基質の変性・喪失を促進する因子としてはほかに leukocyte inhibitory factor (LIF) や interleukin-17 (IL-17) などのサイトカイン, IL-8, RANTES (regulated on activation, normal T cell-expressed and secreted), monocyte chemotactic protein 1 (MCP-1) などのケモカインが知られているが, これらもタンパ

ク分解酵素の発現を誘導することで軟骨の変性をもたらす.

OA 関節ではこのほかにマトリクスの変性産物が直接に MMP や aggrecanase の発現を誘導することも知られている. なかでもファイブロネクチンの変性断片 (FN-f) は軟骨細胞, 滑膜細胞に対して基質産生の抑制, タンパク分解酵素の発現や活性の誘導といった炎症性サイトカインに似た catabolic な反応を強く誘導する⁶⁴⁾. 実際, FN-f の作用の一部は炎症性サイトカイン, ケモカイン, あるいは後述の NO の産生を介したものであることが知られている⁶⁵⁾⁻⁶⁸⁾. FN-f はまた軟骨細胞に対し種々の MMP および aggrecanase を直接誘導する効果も有している^{65),69),70)}. ファイブロネクチンは正常軟骨ではほとんど発現していないが, OA に罹患した軟骨では発現が強く誘導される. われわれはファイブロネクチンが, OA 罹患軟骨において軟骨変性部の表層近くで特に強く誘導されていることを見出した. 軟骨変性部の表層は基質喪失の最前線であり, マトリクスの変性が最も著しい場所であることを考えると, この部位におけるファイブロネクチンの発現は OA の進行に特に重要な意義を持つと思われる.

3. 活性酸素の関与

OA の進行には reactive oxygen species (ROS), とくに NO の産生も大きな意味を持つ. 前述のプロテアーゼが軟骨基質変性の主因であるとするれば, ROS は軟骨細胞障害の主因と言ってもよい. NO は nitric oxide synthase (NOS) によって産生される. 軟骨細胞には neuronal NOS (nNOS) と inducible NOS (iNOS) が発現しており, OA に罹患した軟骨は iNOS の発現亢進によって多量の NO を産生するようになる⁷¹⁾. 産生された NO は細胞内のさまざまなメカニズムを直

接障害することによって基質産生を低下させ^{72),73)}, また細胞死を誘導する^{73),74)}. OA では軟骨細胞数の減少が観察されるが, この原因のひとつが ROS による細胞死の誘導であると考えられている. また NO は軟骨細胞に対して炎症性サイトカインの産生を促し⁷⁵⁾, MMP の活性を誘導する⁷⁶⁾ ことでも OA の進行に関与する. 実際, 動物実験において iNOS の活性阻害が OA の進行を抑制することも報告されている⁷⁷⁾.

4. 生体力学的要因

OA の発症, 進行には軟骨に加わる力学的な負荷の増加が大きな意義を持つ. とくに膝関節では OA の進行に伴いアライメントの変化が生じ, 関節軟骨の変性部に加わる負荷が増大する結果, 疾患の進行が加速される. 力学的な過負荷は軟骨基質を物理的に損傷し, 基質の破壊産物の産生を増加させるとともに軟骨細胞に対して直接 catabolic な反応を引き起こすことが知られている. たとえば力学的ストレスは軟骨細胞に対して NO の産生を促すが^{78),79)}, 産生された NO はさらにタンパク分解酵素や炎症性サイトカインの発現を誘導する.

先述のように軟骨基質の弾性はコラーゲン線維と負の電荷を持ったプロテオグリカンによって保たれる. OA 罹患軟骨では基質中のプロテオグリカンが失われており, コラーゲン線維網の破綻と相まって軟骨の弾性が低下している⁸⁰⁾. このようなマトリクスの変化は軟骨細胞に対する力学的荷重を増強させることになる. また正常な軟骨では軟骨細胞は細胞周囲のコンドロンの呼ばれる固有の構造によって力学的な負荷から保護されているが, OA 罹患軟骨ではこのコンドロンの構造の破綻が観察され, その程度は軟骨変性部で著しい^{81),82)}. OA 軟骨において軟骨細胞に加わる力学的負荷はこのようなコンドロンの変化によっても増加していると考えられる. これらの変化の結果, 軟骨細胞は力学的環境の悪化によっても catabolic な作用を示すようになる. 膝関節などのように OA の進行に伴い軟骨変性部への荷重が増加する場合には, 力学的環境の悪化は病態の進行にとくに大きく関与している可能性がある.

以上, OA における軟骨基質変性の機序について概説してきた. ここで述べた機序は互いに独立したのではなく, 相互に関連しつつ1種の悪循環を形成して軟骨の変性を推し進めることになる (図 3). これに対して軟骨細胞は修復反応を起こして基質産生を増すことが知られている. しかし次項で述べるように, この修復

反応は必ずしも疾患の進行を抑止する上で役に立っていない可能性がある.

5. OA における基質産生

OA は関節軟骨の変性・消失を特徴とする疾患であるため, 病態の解明は基質の変性のメカニズムが中心となってきた. しかし OA では軟骨細胞の基質産生は単純に低下していくのではなく, 疾患の進行に伴ってむしろ高度に亢進する^{83),84)}. この軟骨細胞の基質産生の亢進は一般に軟骨変性に対する修復反応と考えられているが, その機序はまだよくわかっていない. われわれは炎症性サイトカインが成長因子の一種 BMP-2 の発現を直接誘導する現象を見出しており^{85),86)}, これが OA において基質産生が亢進する理由の1つであろうと考えている.

このような基質産生の亢進の結果, 疾患の進行に伴い, 関節軟骨の中には新しく産生されたマトリクス分子が相当な割合で含まれるようになる. たとえば高齢者の軟骨では前述のように分子サイズの小さなアグリカンが増加していくが, OA 罹患軟骨では新しく産生されたアグリカンが蓄積される結果, アグリカンの分子サイズの増加が観察され⁸⁷⁾, 新しく産生されたアグリカン分子に特徴的な 846 epitope 陽性のアグリカンが増加する⁸⁸⁾. II 型コラーゲン分子については, 分子の生体内の存在期間の長さに比例してアスパラギン酸の光学異性体 (D-アスパラギン酸) の含有量が増加することが知られているが, 進行期の OA の症例では年齢から予想されるより少ない量の D-アスパラギン酸しか含まれていない⁸⁹⁾. これらの知見は, いずれも OA 罹患軟骨では基質の一部が新しく産生された分子によって構成されていることを示すものである.

これらのことを考慮すると, OA において新しく産生された軟骨基質が正常な軟骨と同等の「質」を持っているのが問題になる. われわれはレーザー・マイクロダイセクションと定量的 PCR を組み合わせた解析によって, OA 罹患軟骨では IX 型および XI 型コラーゲンの産生が II 型コラーゲンに対して相対的に低下していること, またコラーゲン線維間に架橋を形成する上で重要な酵素 lysyl oxidase の発現が低下していることを見出し, OA において産生される軟骨基質は質的に劣ったものである可能性を明らかにしてきた⁹⁰⁾. OA における軟骨細胞の基質産生の亢進は OA の進行を単純に阻止するものではなく, 状況によって疾患の進行を促進する要因となっているのかもしれない.

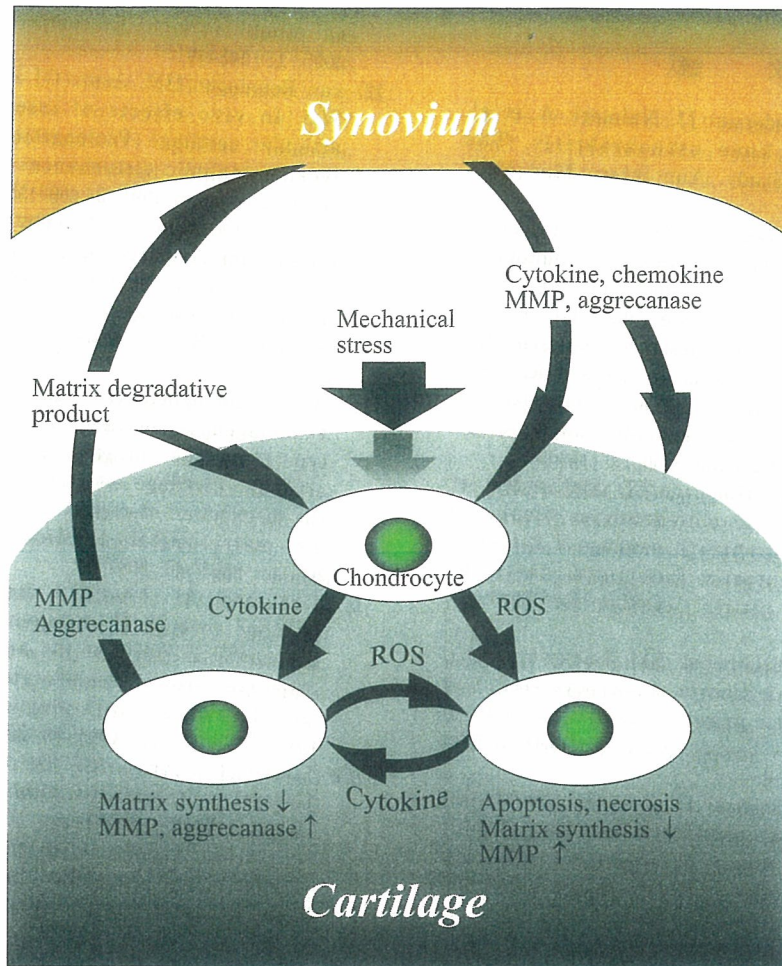


図3 OAの病態におけるタンパク分解酵素、炎症性サイトカイン、ROS、関節軟骨への力学的負荷の相互関係。軟骨細胞は種々の要因による力学的負荷の増大、catabolicなレスポンスの増強などにより炎症性サイトカイン、ROSを過剰に産生するようになる。産生されたサイトカインやROSは軟骨細胞自身に作用して軟骨基質の産生を低下させ、タンパク分解酵素の発現を誘導する。産生されたタンパク分解酵素は基質の変性を引き起こすが、この結果生じた軟骨の変性産物は軟骨細胞自身と滑膜細胞に対して炎症性サイトカインやタンパク分解酵素の発現を誘導するため、軟骨変性はさらに進行することになる。OAではこのように軟骨細胞、滑膜細胞のさまざまなレスポンスが悪循環を形成することによって病態が進行すると考えられる。理解を容易にするため図ではcatabolicな要因を発現する軟骨細胞とこの影響を受ける側の細胞を分けて示してある。

おわりに

多くの研究によってOAにおける病変についてさまざまな機序が明らかにされ、病態の理解が徐々に深まっているのは間違いない。しかし一方であまりに多様な機序が提唱されてきたため、病態においてどのような変化が重要であるのかがむしろ不明確になっている

傾向も見られる、今後OAの病態に含まれるさまざまな現象がそのsignificanceを含めて明らかにされることで効果的な疾患の発症予防法、進行抑止法が確立されることを期待したい。

文 献

- 1) Felson DT, Anderson JJ, Naimark A, et al. Obesity and knee osteoarthritis. The Framingham Study. *Ann Intern Med* 1988; 109: 18-24.
- 2) Felson DT, Zhang Y, Anthony JM, et al. Weight loss reduces the risk for symptomatic knee osteoarthritis in women. The Framingham Study. *Ann Intern Med* 1992; 116: 535-9.
- 3) Verbruggen G, Cornelissen M, Almqvist KF, et al. Influence of aging on the synthesis and morphology of the aggrecans synthesized by differentiated human articular chondrocytes. *Osteoarthritis Cartilage* 2000; 8: 170-9.
- 4) Tran-Khanh N, Hoemann CD, McKee MD, et al. Aged bovine chondrocytes display a diminished capacity to produce a collagen-rich, mechanically functional cartilage extracellular matrix. *J Orthop Res* 2005; 23: 1354-62.
- 5) Martin JA, Ellerbroek SM, Buckwalter JA. Age-related decline in chondrocyte response to insulin-like growth factor-I: the role of growth factor binding proteins. *J Orthop Res* 1997; 15: 491-8.
- 6) Loeser RF, Shanker G. Autocrine stimulation by insulin-like growth factor 1 and insulin-like growth factor 2 mediates chondrocyte survival in vitro. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 1552-9.
- 7) Schafer SJ, Luyten FP, Yanagishita M, et al. Proteoglycan metabolism is age related and modulated by isoforms of platelet-derived growth factor in bovine articular cartilage explant cultures. *Arch Biochem Biophys* 1993; 302: 431-8.
- 8) Scharstuhl A, van Beuningen HM, Vitters EL, et al. Loss of transforming growth factor counteraction on interleukin 1 mediated effects in cartilage of old mice. *Ann Rheum Dis* 2002; 61: 1095-8.
- 9) Blaney Davidson EN, Scharstuhl A, Vitters EL, et al. Reduced transforming growth factor- β signaling in cartilage of old mice: role in impaired repair capacity. *Arthritis Res Ther* 2005; 7: R1338-47.
- 10) Tardif G, Reboul P, Pelletier JP, et al. Normal expression of type 1 insulin-like growth factor receptor by human osteoarthritic chondrocytes with increased expression and synthesis of insulin-like growth factor binding proteins. *Arthritis Rheum* 1996; 39: 968-78.
- 11) Plumb MS, Aspden RM. The response of elderly human articular cartilage to mechanical stimuli in vitro. *Osteoarthritis Cartilage* 2005; 13: 1084-91.
- 12) van Beuningen HM, Arntz OJ, van den Berg WB. In vivo effects of interleukin-1 on articular cartilage. Prolongation of proteoglycan metabolic disturbances in old mice. *Arthritis Rheum* 1991; 34: 606-15.
- 13) Forsyth CB, Cole A, Murphy G, et al. Increased matrix metalloproteinase-13 production with aging by human articular chondrocytes in response to catabolic stimuli. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2005; 60: 1118-24.
- 14) Wu W, Billingham RC, Pidoux I, et al. Sites of collagenase cleavage and denaturation of type II collagen in aging and osteoarthritic articular cartilage and their relationship to the distribution of matrix metalloproteinase 1 and matrix metalloproteinase 13. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 2087-94.
- 15) Hollander AP, Pidoux I, Reiner A, et al. Damage to type II collagen in aging and osteoarthritis starts at the articular surface, originates around chondrocytes, and extends into the cartilage with progressive degeneration. *J Clin Invest* 1995; 96: 2859-69.
- 16) Loeser RF, Carlson CS, Del Carlo M, et al. Detection of nitrotyrosine in aging and osteoarthritic cartilage: Correlation of oxidative damage with the presence of interleukin-1 β and with chondrocyte resistance to insulin-like growth factor 1. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 2349-57.
- 17) Min BH, Kim HJ, Lim H, et al. Effects of aging and arthritic disease on nitric oxide production by human articular chondrocytes. *Exp Mol Med* 2001; 33: 299-302.
- 18) Bobacz K, Erlacher L, Smolen J, et al. Chondrocyte number and proteoglycan synthesis in the aging and osteoarthritic human articular cartilage. *Ann Rheum Dis* 2004; 63: 1618-22.
- 19) Verzijl N, DeGroot J, Bank RA, et al. Age-related accumulation of the advanced glycation endproduct pentosidine in human articular cartilage aggrecan: the use of pentosidine levels as a quantitative measure of protein turnover. *Matrix Biol* 2001; 20: 409-17.
- 20) Verzijl N, DeGroot J, Thorpe SR, et al. Effect of collagen turnover on the accumulation of advanced glycation end products. *J Biol Chem* 2000; 275: 39027-31.
- 21) Chen AC, Temple MM, Ng DM, et al. Induction of advanced glycation end products and alterations of the tensile properties of

- articular cartilage. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 3212-7.
- 22) Verzijl N, DeGroot J, Ben ZC, et al. Crosslinking by advanced glycation end products increases the stiffness of the collagen network in human articular cartilage: a possible mechanism through which age is a risk factor for osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 114-23.
 - 23) DeGroot J, Verzijl N, Wenting-van Wijk MJ, et al. Accumulation of advanced glycation end products as a molecular mechanism for aging as a risk factor in osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 1207-15.
 - 24) Steenvoorden MM, Huizinga TW, Verzijl N, et al. Activation of receptor for advanced glycation end products in osteoarthritis leads to increased stimulation of chondrocytes and synoviocytes. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 253-63.
 - 25) DeGroot J, Verzijl N, Bank RA, et al. Age-related decrease in proteoglycan synthesis of human articular chondrocytes: the role of nonenzymatic glycation. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 1003-9.
 - 26) Inerot S, Heinegard D, Audell L, et al. Articular-cartilage proteoglycans in aging and osteoarthritis. *Biochem J* 1978; 169: 143-56.
 - 27) Bayliss MT, Ali SY. Age-related changes in the composition and structure of human articular-cartilage proteoglycans. *Biochem J* 1978; 176: 683-93.
 - 28) Dudhia J, Davidson CM, Wells TM, et al. Age-related changes in the content of the C-terminal region of aggrecan in human articular cartilage. *Biochem J* 1996; 313 (Pt 3): 933-40.
 - 29) Maroudas A, Bayliss MT, Uchitel-Kaushansky N, et al. Aggrecan turnover in human articular cartilage: use of aspartic acid racemization as a marker of molecular age. *Arch Biochem Biophys* 1998; 350: 61-71.
 - 30) Felson DT, Zhang Y, Hannan MT, et al. Risk factors for incident radiographic knee osteoarthritis in the elderly: the Framingham Study. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 728-33.
 - 31) Manek NJ, Hart D, Spector TD, et al. The association of body mass index and osteoarthritis of the knee joint: an examination of genetic and environmental influences. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 1024-9.
 - 32) Marks R, Allegrante JP. Body mass indices in patients with disabling hip osteoarthritis. *Arthritis Res* 2002; 4: 112-6.
 - 33) Tepper S, Hochberg MC. Factors associated with hip osteoarthritis: data from the First National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES-I). *Am J Epidemiol* 1993; 137: 1081-8.
 - 34) Haara MM, Heliovaara M, Kroger H, et al. Osteoarthritis in the carpometacarpal joint of the thumb. Prevalence and associations with disability and mortality. *J Bone Joint Surg Am* 2004; 86: 1452-7.
 - 35) Oliveria SA, Felson DT, Cirillo PA, et al. Body weight, body mass index, and incident symptomatic osteoarthritis of the hand, hip, and knee. *Epidemiology* 1999; 10: 161-6.
 - 36) Miller GD, Nicklas BJ, Davis CC, et al. Is serum leptin related to physical function and is it modifiable through weight loss and exercise in older adults with knee osteoarthritis? *Int J Obes Relat Metab Disord* 2004; 28: 1383-90.
 - 37) Dumond H, Presle N, Terlain B, et al. Evidence for a key role of leptin in osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 3118-29.
 - 38) Presle N, Pottie P, Dumond H, et al. Differential distribution of adipokines between serum and synovial fluid in patients with osteoarthritis. Contribution of joint tissues to their articular production. *Osteoarthritis Cartilage* 2006; 14: 690-5.
 - 39) Felson DT, Zhang Y, Hannan MT, et al. The incidence and natural history of knee osteoarthritis in the elderly. The Framingham Osteoarthritis Study. *Arthritis Rheum* 1995; 38: 1500-5.
 - 40) Hart DJ, Doyle DV, Spector TD. Incidence and risk factors for radiographic knee osteoarthritis in middle-aged women: the Chingford Study. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 17-24.
 - 41) Nevitt MC, Cummings SR, Lane NE, et al. Association of estrogen replacement therapy with the risk of osteoarthritis of the hip in elderly white women. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *Arch Intern Med* 1996; 156: 2073-80.
 - 42) Zhang Y, McAlindon TE, Hannan MT, et al. Estrogen replacement therapy and worsening of radiographic knee osteoarthritis: the Framingham Study. *Arthritis Rheum* 1998; 41: 1867-73.
 - 43) Bergink AP, van Meurs JB, Loughlin J, et al. Estrogen receptor a gene haplotype is associated with radiographic osteoarthritis of the knee in elderly men and women. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 1913-22.

- 44) Sowers MR, McConnell D, Jannausch M, et al. Estradiol and its metabolites and their association with knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 2481-7.
- 45) Kinney RC, Schwartz Z, Week K, et al. Human articular chondrocytes exhibit sexual dimorphism in their responses to 17β -estradiol. *Osteoarthritis Cartilage* 2005; 13: 330-7.
- 46) Richmond RS, Carlson CS, Register TC, et al. Functional estrogen receptors in adult articular cartilage: estrogen replacement therapy increases chondrocyte synthesis of proteoglycans and insulin-like growth factor binding protein 2. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 2081-90.
- 47) Flannery CR, Lark MW, Sandy JD. Identification of a stromelysin cleavage site within the interglobular domain of human aggrecan. Evidence for proteolysis at this site in vivo in human articular cartilage. *J Biol Chem* 1992; 267: 1008-14.
- 48) Fosang AJ, Neame PJ, Last K, et al. The interglobular domain of cartilage aggrecan is cleaved by PUMP, gelatinases, and cathepsin B. *J Biol Chem* 1992; 267: 19470-4.
- 49) Fosang AJ, Last K, Knauper V, et al. Fibroblast and neutrophil collagenases cleave at two sites in the cartilage aggrecan interglobular domain. *Biochem J* 1993; 295 (Pt 1): 273-6.
- 50) Fosang AJ, Last K, Knauper V, et al. Degradation of cartilage aggrecan by collagenase-3 (MMP-13). *FEBS Lett* 1996; 380: 17-20.
- 51) Malfait AM, Liu RQ, Ijiri K, et al. Inhibition of ADAM-TS4 and ADAM-TS5 prevents aggrecan degradation in osteoarthritic cartilage. *J Biol Chem* 2002; 277: 22201-8.
- 52) Reboul P, Pelletier JP, Tardif G, et al. The new collagenase, collagenase-3, is expressed and synthesized by human chondrocytes but not by synoviocytes. A role in osteoarthritis. *J Clin Invest* 1996; 97: 2011-9.
- 53) Billingham RC, Dahlberg L, Ionescu M, et al. Enhanced cleavage of type II collagen by collagenases in osteoarthritic articular cartilage. *J Clin Invest* 1997; 99: 1534-45.
- 54) Mitchell PG, Magna HA, Reeves LM, et al. Cloning, expression, and type II collagenolytic activity of matrix metalloproteinase-13 from human osteoarthritic cartilage. *J Clin Invest* 1996; 97: 761-8.
- 55) Aigner T, Zien A, Gehrsitz A, et al. Anabolic and catabolic gene expression pattern analysis in normal versus osteoarthritic cartilage using complementary DNA-array technology. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 2777-89.
- 56) Fukui N, Purple CR, Sandell LJ. Cell biology of osteoarthritis: the chondrocyte's response to injury. *Curr Rheumatol Rep* 2001; 3: 496-505.
- 57) Lohmander LS, Neame PJ, Sandy JD. The structure of aggrecan fragments in human synovial fluid. Evidence that aggrecanase mediates cartilage degradation in inflammatory joint disease, joint injury, and osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 1993; 36: 1214-22.
- 58) Sandy JD, Flannery CR, Neame PJ, et al. The structure of aggrecan fragments in human synovial fluid. Evidence for the involvement in osteoarthritis of a novel proteinase which cleaves the Glu 373-Ala 374 bond of the interglobular domain. *J Clin Invest* 1992; 89: 1512-6.
- 59) Tortorella MD, Burn TC, Pratta MA, et al. Purification and cloning of aggrecanase-1: a member of the ADAMTS family of proteins. *Science* 1999; 284: 1664-6.
- 60) Abbaszade I, Liu RQ, Yang F, et al. Cloning and characterization of ADAMTS11, an aggrecanase from the ADAMTS family. *J Biol Chem* 1999; 274: 23443-50.
- 61) Nagase H, Kashiwagi M. Aggrecanases and cartilage matrix degradation. *Arthritis Res Ther* 2003; 5: 94-103.
- 62) Glasson SS, Askew R, Sheppard B, et al. Characterization of and osteoarthritis susceptibility in ADAMTS-4-knockout mice. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 2547-58.
- 63) Glasson SS, Askew R, Sheppard B, et al. Deletion of active ADAMTS5 prevents cartilage degradation in a murine model of osteoarthritis. *Nature* 2005; 434: 644-8.
- 64) Homandberg GA, Meyers R, Xie DL. Fibronectin fragments cause chondrolysis of bovine articular cartilage slices in culture. *J Biol Chem* 1992; 267: 3597-604.
- 65) Arner EC, Tortorella MD. Signal transduction through chondrocyte integrin receptors induces matrix metalloproteinase synthesis and synergizes with interleukin-1. *Arthritis Rheum* 1995; 38: 1304-14.
- 66) Pulai JI, Chen H, Im HJ, et al. NF- κ B mediates the stimulation of cytokine and chemokine expression by human articular chondrocytes in response to fibronectin fragments. *J Immunol* 2005; 174: 5781-8.
- 67) Homandberg GA, Hui F, Wen C, et al. Fibronectin-fragment-induced cartilage chondrolysis is associated with release of

- catabolic cytokines. *Biochem J* 1997; 321 (Pt 3): 751-7.
- 68) Attur MG, Dave MN, Clancy RM, et al. Functional genomic analysis in arthritis-affected cartilage: yin-yang regulation of inflammatory mediators by $\alpha 5\beta 1$ and $\alpha V\beta 3$ integrins. *J Immunol* 2000; 164: 2684-91.
- 69) Stanton H, Ung L, Fosang AJ. The 45 kDa collagen-binding fragment of fibronectin induces matrix metalloproteinase-13 synthesis by chondrocytes and aggrecan degradation by aggrecanases. *Biochem J* 2002; 364: 181-90.
- 70) Forsyth CB, Pulai J, Loeser RF. Fibronectin fragments and blocking antibodies to $\alpha 2\beta 1$ and $\alpha 5\beta 1$ integrins stimulate mitogen-activated protein kinase signaling and increase collagenase 3 (matrix metalloproteinase 13) production by human articular chondrocytes. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 2368-76.
- 71) Amin AR, Di Cesare PE, Vyas P, et al. The expression and regulation of nitric oxide synthase in human osteoarthritis-affected chondrocytes: evidence for up-regulated neuronal nitric oxide synthase. *J Exp Med* 1995; 182: 2097-102.
- 72) Johnson K, Jung A, Murphy A, et al. Mitochondrial oxidative phosphorylation is a downstream regulator of nitric oxide effects on chondrocyte matrix synthesis and mineralization. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 1560-70.
- 73) Terkeltaub R, Johnson K, Murphy A, et al. Invited review: the mitochondrion in osteoarthritis. *Mitochondrion* 2002; 1: 301-19.
- 74) Blanco FJ, Ochs RL, Schwarz H, et al. Chondrocyte apoptosis induced by nitric oxide. *Am J Pathol* 1995; 146: 75-85.
- 75) Taskiran D, Stefanovic-Racic M, Georgescu H, et al. Nitric oxide mediates suppression of cartilage proteoglycan synthesis by interleukin-1. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 200: 142-8.
- 76) Murrell GA, Jang D, Williams RJ. Nitric oxide activates metalloprotease enzymes in articular cartilage. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 206: 15-21.
- 77) Pelletier JP, Jovanovic D, Fernandes JC, et al. Reduced progression of experimental osteoarthritis in vivo by selective inhibition of inducible nitric oxide synthase. *Arthritis Rheum* 1998; 41: 1275-86.
- 78) Fermor B, Weinberg JB, Pisetsky DS, et al. The effects of static and intermittent compression on nitric oxide production in articular cartilage explants. *J Orthop Res* 2001; 19: 729-37.
- 79) Lee MS, Trindade MC, Ikenoue T, et al. Regulation of nitric oxide and bcl-2 expression by shear stress in human osteoarthritic chondrocytes in vitro. *J Cell Biochem* 2003; 90: 80-6.
- 80) Setton LA, Elliott DM, Mow VC. Altered mechanics of cartilage with osteoarthritis: human osteoarthritis and an experimental model of joint degeneration. *Osteoarthritis Cartilage* 1999; 7: 2-14.
- 81) Hambach L, Neureiter D, Zeiler G, et al. Severe disturbance of the distribution and expression of type VI collagen chains in osteoarthritic articular cartilage. *Arthritis Rheum* 1998; 41: 986-96.
- 82) Soder S, Hambach L, Lissner R, et al. Ultrastructural localization of type VI collagen in normal adult and osteoarthritic human articular cartilage. *Osteoarthritis Cartilage* 2002; 10: 464-70.
- 83) Nelson F, Dahlberg L, Laverty S, et al. Evidence for altered synthesis of type II collagen in patients with osteoarthritis. *J Clin Invest* 1998; 102: 2115-25.
- 84) Thompson RC Jr, Oegema TR Jr. Metabolic activity of articular cartilage in osteoarthritis. An in vitro study. *J Bone Joint Surg Am* 1979; 61: 407-16.
- 85) Fukui N, Zhu Y, Maloney WJ, et al. Stimulation of BMP-2 expression by pro-inflammatory cytokines IL-1 β and TNF- α in normal and osteoarthritic chondrocytes. *J Bone Joint Surg Am* 2003; 85 Suppl 3: 59-66.
- 86) Fukui N, Ikeda Y, Ohnuki T, et al. Pro-inflammatory cytokine tumor necrosis factor- α induces bone morphogenetic protein-2 in chondrocytes via mRNA stabilization and transcriptional up-regulation. *J Biol Chem* 2006; 281: 27229-41.
- 87) Rizkalla G, Reiner A, Bogoch E, et al. Studies of the articular cartilage proteoglycan aggrecan in health and osteoarthritis. Evidence for molecular heterogeneity and extensive molecular changes in disease. *J Clin Invest* 1992; 90: 2268-77.
- 88) Poole AR, Ionescu M, Swan A, et al. Changes in cartilage metabolism in arthritis are reflected by altered serum and synovial fluid levels of the cartilage proteoglycan aggrecan. Implications for pathogenesis. *J Clin Invest* 1994; 94: 25-33.
- 89) Stabler T, Kong S, Vail T, et al. Amino acid racemization in osteoarthritic articular

cartilage. *Osteoarthritis Cartilage* 2005; 13
Supplement A: S60.
90) Fukui N, Sandell LJ, Ikeda Y, et al. Dispro-

portionate matrix gene expression in osteoar-
thritic chondrocytes. *Osteoarthritis Cartilage*
2004; 12: S12.

変形性関節症の発症原因

福井 尚志**

Pathogenesis of Osteoarthritis

Naoshi Fukui

臨整外 42:17~22, 2007

Key words : osteoarthritis (変形性関節症), pathogenesis (原因)

変形性関節症(OA)は運動器領域の代表的な common disease であるため疾患の進行のメカニズムについては多くの研究がなされ、様々な知見が得られている。しかし OA の狭義の発症のメカニズムについては研究が困難なこともあり、まだ不明な点が多く残されている。本稿では疫学的研究により OA 発症の危険性を増すことが知られている年齢、肥満、性について疾患発症とどのように関連するのか現在までに知られていることを述べ、さらに最近新たな知見が相次いで報告されている OA の遺伝的要因についても触れる。

変形性関節症(OA)は運動器領域の代表的な common disease であるため、病態についてもさまざまな角度から解明が進められており、今までに多くの知見が得られている。OA の病態は一般に OA が発症するメカニズムと発症した後に疾患が進行するメカニズムとに分けて考えたほうが理解が容易である。本稿では前者、すなわちなぜ OA が発症するのかに焦点を絞り、現在までにわかっている知見をまとめてみたい。

OA の発症のメカニズムを考える場合、疫学的研究により明らかになった OA 発症の確率を増加させる因子(危険因子)に着目するのが有用である。従来の研究から外傷や関節炎の既往、年齢、肥満、性、の4つが OA の明らかな危険因子であることが知られている^{3,4)}。本稿では以下にこのうち年齢以下の3つの要因についてそれぞれ OA の発症とどのように関連するのかを述べ、最後に最近新たな知見が相次いで報告されている OA の遺伝的要因についても触れる。

■ 加齢とOAの発症

外傷や関節炎などの既往のない一次性の OA の場合、年齢は発症の最大の危険因子であり、OA の発症率は年齢が高くなるに従い顕著に上昇する。では年齢に伴って OA が発症しやすくなるのはなぜだろうか？ これに対するはっきりした回答はまだ得られていないが、軟骨の基質と細胞の両方に加齢に伴う変化が生じることが知られており、これが OA 発症の引き金となるのではないかと考えられている。

軟骨中にある細胞は軟骨細胞だけであり、軟骨基質の維持は軟骨細胞の代謝に大きく依存する。したがって軟骨細胞の挙動の変化は直接に軟骨の変化を引き起こすことになる。高齢者の軟骨細胞は一般に軟骨基質を産生する能力が低下しており¹⁶⁾、これが OA の発症に関連している可能性がある。また高齢者から採取した軟骨細胞は、タンパク分解酵素の発現や細胞の障害を引き起こす nitric oxide (NO) を産生する傾向が強まってお

** 国立病院機構相模原病院臨床研究センター病態総合研究部〔☎228-8522 神奈川県相模原市桜台 18-1〕 Clinical Research Center for Allergy and Rheumatology, National Hospital Organization Sagami-hara National Hospital

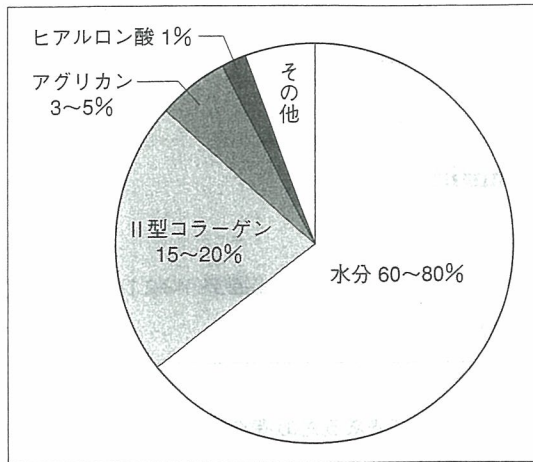


図1 関節軟骨の組成

軟骨はその重量の60~80%が水分である。水分以外の構成要素としてはII型コラーゲンが最も多く、アグリカンがこれに次ぐ。

り⁸⁾、これもOA発症の一因となっているのかもしれない。ただしOAでは疾患の進行に伴って軟骨細胞の基質産生は正常軟骨の何倍にも亢進することから、加齢に伴う軟骨細胞の基質産生能の低下は不可逆的なものではなく、適切な刺激により回復可能なものであると考えられる。

一方、加齢に伴う軟骨基質の性質の変化は基質の変性に直接関連する要因の1つである。とくに荷重関節では軟骨に常に大きな荷重が加わっているため、軟骨基質の特性は軟骨の変性に密接に関連する。基質の変化はまた軟骨細胞の挙動に影響を与えることにより間接的にもOAの発症に関与する。これは軟骨細胞が力学的な環境の変化にきわめて敏感な細胞であるためで、たとえば軟骨基質の性質が変化して細胞に加わる力学的な負荷が変わることで軟骨細胞の基質産生量が変化する可能性が指摘されている。以下に加齢に伴う軟骨基質の変化がどのような機序によって起こるのかについて考えてみたい。

軟骨基質はII型コラーゲンを中心とするコラーゲンと、アグリカンをはじめとするプロテオグリカンによって構成される。コラーゲンは軟骨の乾燥重量のおよそ60%を占め、そのうち90%がII型コラーゲンである。一方、プロテオグリカンもその90%はアグリカンである(図1)。軟骨中のII

型コラーゲン、アグリカンにはいずれにも加齢に伴う変化が生じるが、その内容はそれぞれ異なる。

加齢とともにII型コラーゲンに生じる変化の中で最も重要なものはadvanced glycation end product(AGE:最終糖化反応物)の形成である。

AGEはタンパク分子に糖分子が直接に化合することによって生じる化合物で、体内の種々の組織でタンパク分子の存在する期間に比例してAGEの量が増すことがわかっている。軟骨の特徴の1つは、これを構成するマトリクスの代謝回転が極めて遅いことで、たとえばII型コラーゲンの場合その半減期は100年以上とされ¹⁷⁾、このため高齢者の軟骨中のII型コラーゲンには高い密度でAGEが形成されている²⁾。高齢者の関節軟骨はとくに病的変化がなくてもしばしば黄色を呈するが、これはAGEの形成によるものである。AGEの形成は単に軟骨の色調の変化をきたすだけではなく、軟骨の機械的な特性を変化させる。AGEにはいくつかの種類があるが、その1つペントシジンは分子の間に架橋構造を形成する性質があり(図2)、その形成に伴って組織は硬く、脆くなる。また軟骨細胞はAGEに対するリセプターを持っており、軟骨基質中のAGEの濃度が高くなると、軟骨細胞ではこれに応じて炎症性サイトカインやmatrix metalloproteinase(MMP)の産生が亢進する¹⁵⁾。

軟骨基質のもう1つの主成分であるアグリカンには加齢に伴い分子の短縮という別の変化が生じる。アグリカン分子はコア・プロテインと呼ばれる直鎖上のタンパク分子にグリコサミノグリカンの側鎖が多数結合した構造を有し、軟骨内ではヒアルロン酸に結合して存在する(図3)。いろいろな年齢のヒトの関節軟骨からアグリカンを抽出して調べたところ、高齢者ほど切断され分子量が小さくなったアグリカンが増加していることが明らかになった¹⁸⁾(図4)。アグリカン分子はヒアルロン酸との結合部分を保っているため、短縮した後も軟骨基質内にとどまる。アグリカン分子の第一の機能は、その側鎖が持つ強い負の電荷によって電解質や水分子を軟骨基質内にひきつけ、これによって軟骨の弾性を維持することにある。このため分子の短縮が起こり側鎖の数が減少すると、

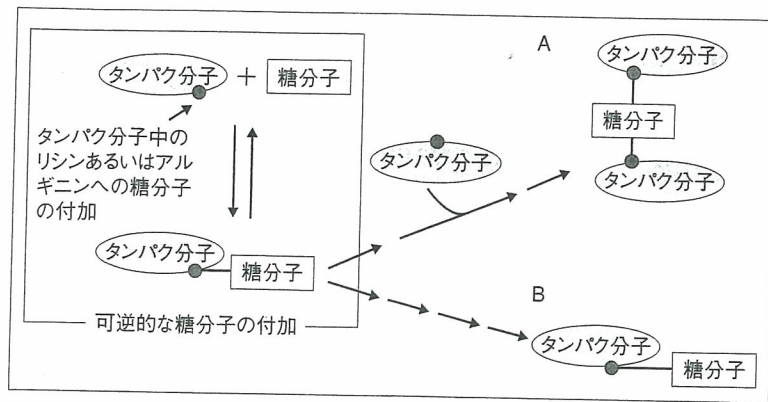


図 2 AGE による分子間の架橋形成の概念図

AGE はタンパク分子中のリシンあるいはアルギニン分子にショ糖や果糖などの糖分子が化学的に結合することにより形成が開始される。はじめこの結合は可逆的であるが、いくつかのプロセスを経て不可逆的な結合へと変化する。この過程で形成される AGE の種類により、糖分子を介して他の分子との間に架橋を形成する場合(A)と糖分子が単にタンパク分子に付加するだけで架橋を形成しない場合(B)とに分かれる。

それに伴い軟骨の弾性も低下することになる。高齢者における軟骨の物性の変化には、前述の AGE の形成とともにこのアグリカン分子の短縮が大きく関与していると考えられる。つまり高齢者の軟骨は基質内の AGE の蓄積とアグリカン分子の短縮という 2 つの機序によって OA 変化が生じやすい状態になっていると言えよう。

肥満

一般に肥満は関節に加わる荷重を増やすことで OA の発症を促すと考えられている。しかし肥満している者では手指の関節のような非荷重関節においても OA の発症率が高いことが明らかになり^{5,14}、肥満と OA の関係は単に荷重によるものだけではないことがわかってきた。最近の研究結果から、肥満者における OA の発症には脂肪組織で産生されるアディポカインと呼ばれるサイトカインに似た作用を持つ物質が関与しているのではないかと考えられている。なかでもアディポカインの一種レプチンは動物実験においてレプチンを関節内に投与したところ OA 様の変化が生じたこと、肥満している者において関節液中のレプチン濃度が肥満の程度に関連して上昇する傾向があっ

たこと、などの理由で OA との関連がとくに注目されている物質である¹⁰。肥満傾向のある者では減量を行うことで OA の発症率、進行速度は明らかに減少する。このような減量の治療効果も一部はレプチンの産生低下によるものなのかもしれない。

性差

OA の罹患率には明らかな性差がある。膝関節の場合、女性の OA 罹患率は同年代の男性の 1.5~2.0 倍であるとされ、膝以外の関節についても同様の性差が報告されている³。疫学的研究によって女性では閉経後に OA の発症が急増すること⁶、ホルモン補充療法を受けた女性では膝および股関節における OA の発症が減少すること^{13,19}、またエストロゲン受容体の遺伝子多型が OA の発症と関連すること¹¹などから、性差の原因はおもにエストロゲンにあると考えられている。しかし実際にエストロゲンがどのような機序で OA の発症を抑えるのかはまだ解明されていない。なお OA の発症を予防するためのエストロゲンの投与は、エストロゲンが OA の発症を抑止する効果が比較的弱いことと有害事象の問題から実

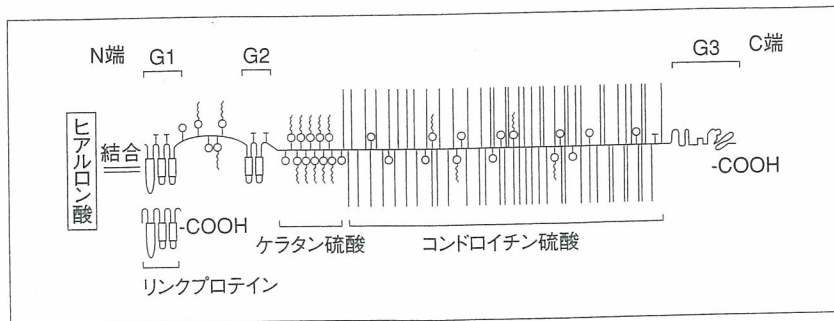


図 3 アグリカン分子の模式図

アグリカン分子は直鎖上のコア・プロテインにグリコサミノグリカンの側鎖が多数結合した構造をとる。アグリカンは軟骨基質中でヒアルロン酸に結合して存在し、網の目状の構造のコラーゲンの内部に閉じ込められた状態になっている。リンクプロテインはアグリカンとヒアルロン酸の結合を補強する働きがある。

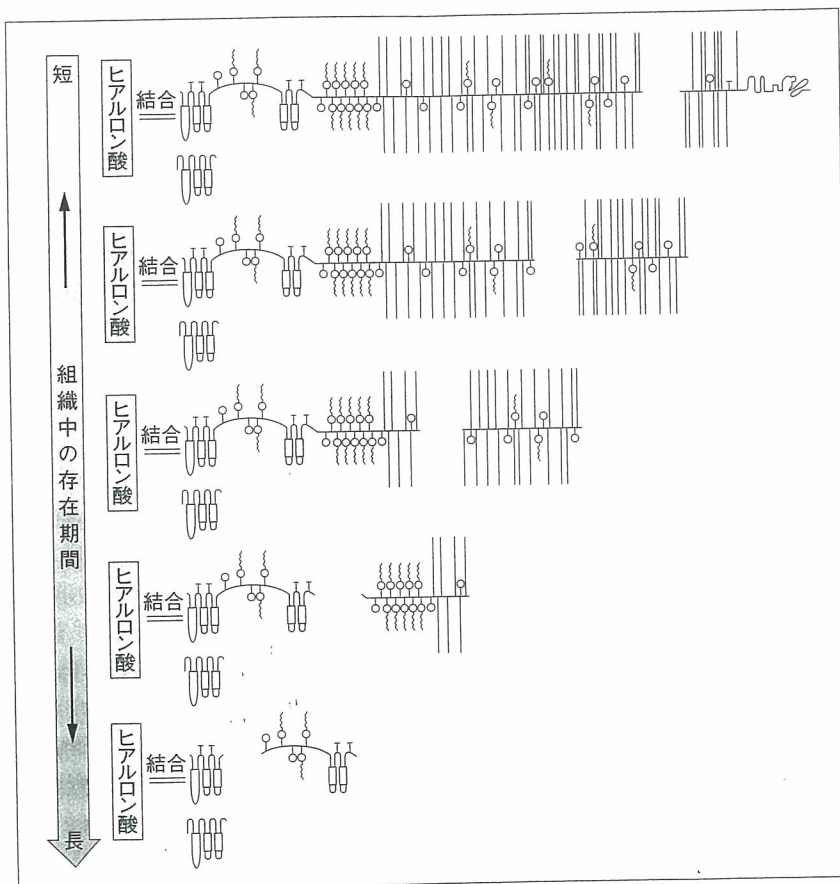


図 4 加齢に伴うアグリカン分子の変化

高齢者ではカルボキシル側が切断された、短いアグリカン分子が増えていく。これはOA変化がなくても軟骨中でアグリカン分子がタンパク分解酵素による切断を受けるためと考えられる。アグリカン分子にはタンパク分解酵素の切断部位が複数あり、加齢とともに1つの分子が繰り返し切断を受けて徐々に短縮し、分子量を減じていくと考えられる。

際には行われていない。

遺伝的素因

OA の症例の中には全身の関節に OA が多発したり、家族集積性を示すものがあり、遺伝的素因の関与が考えられる場合がしばしばある。実際、一卵性双生児では OA の発症が高い確率で一致することが知られている。このため OA の感受性遺伝子を捜す試みはかなり以前から行われてきた。当初、OA の原因遺伝子は軟骨を構成する成分にあるのではないかと考えられ、軟骨、骨を構成する遺伝子、代謝に関与する遺伝子について検索が精力的に行われたが、OA の発症に密接に関与する遺伝子は見出すことができなかった。

このため軟骨や骨との関連が明らかでない遺伝子も含めてすべての遺伝子の中から OA の発症に関与する遺伝子を探す試みが行われるようになった。この方法により最近同定された OA 感受性遺伝子として重要なものに *ASPN*, *CALMI*, *FRZB* の3つがあるが、このうち前2者は国内の研究グループによって明らかにされたものである。*ASPN* はアスポリンをコードする遺伝子である。アスポリンは軟骨中に含まれる小分子量のプロテオグリカン(小型プロテオグリカン)の1つで、成長因子の1つ TGF- β と結合してその活性を変える性質を持つ。この性質がアスポリンの遺伝子型によって異なるため、一定の型のアスポリン遺伝子を持っている場合に OA の発症率が高くなると考えられている⁷⁾。一方 *CALMI* はカルモデュリンをコードする遺伝子である。カルモデュリンはカルシウムと結合する性質を持つ細胞内タンパクの1つで、軟骨細胞においてII型コラーゲンやアグリカンの発現を亢進させることが知られている。この遺伝子のプロモーター領域の特定の遺伝子型はカルモデュリンの発現を低下させることで OA の発症を引き起こすと考えられている¹²⁾。なおアスポリンの遺伝子多型は膝関節、股関節のいずれの OA にも関連があることが知られているが、カルモデュリンは股関節の OA とのみ関連が知られている。一方、*FRZB* は SFRP3(secreted frizzled related protein 3)をコードする遺伝子であ

る。SFRP3 は軟骨細胞の肥大化・骨化を促す分泌型タンパク Wnt の活性を抑制する働きを持つタンパクであるが、*FRZB* の特定の遺伝子型ではこの分子が本来の機能を失っており、このため OA が高率で発症すると考えられる^{9,11)}。

以上、本稿では OA の発症をもたらすメカニズムについての現在までの知見をまとめてきた。OA は日常の診療でしばしば単一の疾患として扱われるが、発症の機序や遺伝的素因の解析結果から明らかかなようにその病態は実は極めて複雑である。今後発症や進行のメカニズムがさらに解明されていくことによって、OA の進行を抑止しうる治療法が確立されることが期待される。

文献

- 1) Bergink AP, van Meurs JB, Loughlin J, et al : Estrogen receptor a gene haplotype is associated with radiographic osteoarthritis of the knee in elderly men and women. *Arthritis Rheum* 48 : 1913-1922, 2003
- 2) DeGroot J, Verzijl N, Wenting-van Wijk MJ, et al : Accumulation of advanced glycation end products as a molecular mechanism for aging as a risk factor in osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 50 : 1207-1215, 2004
- 3) Felson DT, Zhang Y, Hannan MT, et al : The incidence and natural history of knee osteoarthritis in the elderly. The Framingham Osteoarthritis Study. *Arthritis Rheum* 38 : 1500-1505, 1995
- 4) Felson DT, Zhang Y, Hannan MT, et al : Risk factors for incident radiographic knee osteoarthritis in the elderly: the Framingham study. *Arthritis Rheum* 40 : 728-733, 1997
- 5) Haara MM, Heliovaara M, Kroger H, et al : Osteoarthritis in the carpometacarpal joint of the thumb. Prevalence and associations with disability and mortality. *J Bone Joint Surg Am* 86 : 1452-1457, 2004
- 6) Hart DJ, Doyle DV, Spector TD : Incidence and risk factors for radiographic knee osteoarthritis in middle-aged women: the Chingford Study. *Arthritis Rheum* 42 : 17-24, 1999
- 7) Kizawa H, Kou I, Iida A, et al : An aspartic acid repeat polymorphism in asporin inhibits chondrogenesis and increases susceptibility to osteoarthritis. *Nat Genet* 37 : 138-144, 2005
- 8) Loeser RF, Carlson CS, Del Carlo M, et al : Detection of nitrotyrosine in aging and osteoarthritic cartilage : Correlation of oxidative damage with the pres-

- ence of interleukin-1b and with chondrocyte resistance to insulin-like growth factor I. *Arthritis Rheum* **46** : 2349-2357, 2002
- 9) Loughlin J, Dowling B, Chapman K, et al : Functional variants within the secreted frizzled-related protein 3 gene are associated with hip osteoarthritis in females. *Proc Natl Acad Sci USA* **101** : 9757-9762, 2004
 - 10) Miller GD, Nicklas BJ, Davis CC, et al : Is serum leptin related to physical function and is it modifiable through weight loss and exercise in older adults with knee osteoarthritis? *Int J Obes Relat Metab Disord* **28** : 1383-1390, 2004
 - 11) Min JL, Meulenbelt I, Riyazi N, et al : Association of the Frizzled-related protein gene with symptomatic osteoarthritis at multiple sites. *Arthritis Rheum* **52** : 1077-1080, 2005
 - 12) Mototani H, Mabuchi A, Saito S, et al : A functional single nucleotide polymorphism in the core promoter region of CALM1 is associated with hip osteoarthritis in Japanese. *Hum Mol Genet* **14** : 1009-1017, 2005
 - 13) Nevitt MC, Cummings SR, Lane NE, et al : Association of estrogen replacement therapy with the risk of osteoarthritis of the hip in elderly white women. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *Arch Intern Med* **156** : 2073-2080, 1996
 - 14) Oliveria SA, Felson DT, Cirillo PA, et al : Body weight, body mass index, and incident symptomatic osteoarthritis of the hand, hip, and knee. *Epidemiology* **10** : 161-166, 1999
 - 15) Steenvoorden MM, Huizinga TW, Verzijl N, et al : Activation of receptor for advanced glycation end products in osteoarthritis leads to increased stimulation of chondrocytes and synoviocytes. *Arthritis Rheum* **54** : 253-263, 2006
 - 16) Tran-Khanh N, Hoemann CD, McKee MD, et al : Aged bovine chondrocytes display a diminished capacity to produce a collagen-rich, mechanically functional cartilage extracellular matrix. *J Orthop Res* **23** : 1354-1362, 2005
 - 17) Verzijl N, DeGroot J, Thorpe SR, et al : Effect of collagen turnover on the accumulation of advanced glycation end products. *J Biol Chem* **275** : 39027-39031, 2000
 - 18) Verzijl N, DeGroot J, Bank RA, et al : Age-related accumulation of the advanced glycation end product pentosidine in human articular cartilage aggrecan : the use of pentosidine levels as a quantitative measure of protein turnover. *Matrix Biol* **20** : 409-417, 2001
 - 19) Zhang Y, McAlindon TE, Hannan MT, et al : Estrogen replacement therapy and worsening of radiographic knee osteoarthritis: the Framingham Study. *Arthritis Rheum* **41** : 1867-1873, 1998

「読者の声」募集

弊誌では、読者の皆様の“ひとこと”(ご意見)を募集しています。

- 1) 原稿の内容については特に限定いたしません。以下のような内容を歓迎いたします。掲載の採否は編集委員会で決定させていただきます。

- ・ 診療、研究のなかでのエピソード、気づいた出来事、雑感
- ・ 弊誌掲載論文、記事などに対する感想、意見
- ・ 整形外科臨床、整形外科(医学)教育、整形外科臨床研修などをめぐる諸問題
- ・ 医療行政、社会保険制度などについての感想、意見

- 2) ご送付の際は弊誌 E メール(rinseige@igaku-shoin.co.jp)または綴じ込みハガキをご利用ください。(レイアウトの関係で字数等多少変更させていただくことがあります。)

『臨床整形外科』編集室

S100A1 and S100B, transcriptional targets of SOX trio, inhibit terminal differentiation of chondrocytes

Taku Saito¹, Toshiyuki Ikeda², Kozo Nakamura¹, Ung-il Chung² & Hiroshi Kawaguchi^{1*}

¹Department of Sensory and Motor System Medicine, Faculty of Medicine, and ²Faculty of Medicine, Center for Disease Biology and Integrative Medicine, University of Tokyo, Bunkyo, Tokyo, Japan

Transcription factor SOX9 (sex-determining region Y-type high mobility group box 9) and its coactivators SOX5 and SOX6 (the SOX trio) induce early-stage chondrocyte differentiation and suppress its terminal stage. To identify possible targets of the SOX trio, we carried out a microarray analysis and identified S100A1 and S100B as possible target molecules. S100 protein expression was localized in late proliferative and pre-hypertrophic chondrocytes of the mouse growth plate. Overexpression of S100A1, S100B or their combination in cultured chondrogenic cells did not induce early differentiation, but suppressed hypertrophic differentiation and mineralization. Silencing of both S100A1 and S100B stimulated terminal differentiation and reversed the SOX-trio-mediated inhibition. Finally, luciferase reporter, electrophoretic mobility shift and chromatin immunoprecipitation analyses showed that transcription of both S100 proteins is induced by the SOX trio, and also identified their respective enhancer elements in the 5'-end flanking region. We conclude that S100A1 and S100B are transcriptional targets of the SOX trio and mediate its inhibition of terminal differentiation of chondrocytes.

Keywords: SOX; S100; chondrocyte; cartilage; hypertrophy

EMBO reports advance online publication 30 March 2007;

doi:10.1038/sj.embor.7400934

INTRODUCTION

During endochondral ossification for skeletal development, cells in the mesenchymal condensations differentiate into chondrocytes that then undergo proliferation and differentiation into hypertrophic cells. The hypertrophic chondrocytes mineralize a surrounding matrix to provide a scaffold for osteoblastic cells. Many lines of evidence have shown that the sex-determining region Y-type high mobility group box (SOX) family transcription factors are required at sequential steps of the chondrocyte differentiation (Bi *et al*, 2001; Akiyama *et al*, 2002). Among them,

SOX9 is known to be an essential transcription factor for mesenchymal condensation and subsequent chondrocyte differentiation at an early stage (Foster *et al*, 1994; Wagner *et al*, 1994; Ng *et al*, 1997). Two members of the SOX family, SOX5 and SOX6, are known to function as coactivators of SOX9 in chondrocyte differentiation (Lefebvre *et al*, 1998; Smits *et al*, 2001). Accumulated evidence on mutant mice with loss of function of the SOX factors has shown that they also function as potent inhibitors of terminal differentiation (Bi *et al*, 2001; Smits *et al*, 2001; Akiyama *et al*, 2002). We reported previously that the combination of SOX9, SOX5 and SOX6 (the SOX trio) highly stimulated the early stage of chondrocyte differentiation in several cultured cells, including nonchondrogenic cells (Ikeda *et al*, 2004). In addition, the SOX trio inhibited terminal differentiation of chondrocytes. This effect could potentially be explored to benefit regenerative medicine of permanent cartilage. The present study sought to identify transcriptional targets of the SOX trio by a microarray analysis, and further investigated their functional involvement in chondrocyte differentiation.

RESULTS AND DISCUSSION

Induction of S100A1 and S100B by the SOX trio

A microarray analysis was performed using human mesenchymal stem cells (hMSCs) adenovirally transfected with the SOX trio or a LacZ control. We identified 17 and 373 genes that were upregulated more than five- and twofold, respectively, as well as 5 and 230 genes downregulated more than five- and twofold, respectively, by the SOX trio (supplementary Table online). Among them, S100A1 and S100B—S100 protein family members, which are the largest subgroup in the superfamily of proteins carrying the Ca²⁺-binding EF-hand motif—showed the strongest increases. Real-time reverse transcription-PCR (RT-PCR) analysis confirmed that S100A1 and S100B expression was induced by adenoviral transfection of SOX9 alone, and more strongly by that of the SOX trio—but not by SOX5 or SOX6 alone—in hMSCs, human dermal fibroblasts, chondrogenic cell line ATDC5 and nonchondrogenic cell lines HeLa and HuH-7 (Fig 1).

Expression patterns of S100A1 and S100B

To identify the expression patterns of S100A1 and S100B in the sequential differentiation stages of chondrocytes, we carried out

¹Department of Sensory and Motor System Medicine, Faculty of Medicine, and ²Faculty of Medicine, Center for Disease Biology and Integrative Medicine, University of Tokyo, Hongo 7-3-1, Bunkyo, Tokyo 113-8655, Japan
*Corresponding author. Tel: +81 33815 5411 ext. 30473; Fax: +81 33818 4082; E-mail: kawaguchi-ort@h.u-tokyo.ac.jp

Received 7 August 2006; revised 17 January 2007; accepted 29 January 2007; published online 30 March 2007