

表1 わが国における骨パジェット\*病の治療薬(文献10から引用改変)

## I. 厚生省による認可をうけた治療薬

薬剤名	商品名	投与方法
ビスフォスフォネート製剤 (Etidronate disodium)	ガイドロネル (大日本住友製薬)	<ul style="list-style-type: none"> <li>・本剤の吸収をよくするため、服薬前後2時間は食物の摂取を避けること。</li> <li>・通常、成人には、エチドロン酸二ナトリウムとして200mgを1日1回、食間に経口投与する。なお、年齢、症状により適宜増減できるが、1日1000mgを超えないこと。</li> <li>・通常用量(200mg/日:2.5~5mg/kg相当)の場合、投与期間は6ヵ月を超えないこと。また200mg/日の投与量を超える場合、投与期間は3ヵ月を超えないこと。</li> <li>・再治療は少なくとも3ヵ月の休薬期間をおき、生化学所見、症状あるいはその他の所見で、症状の進行が明らかな場合にのみ行うこと。</li> </ul>
カルシトニン製剤 (Elcatonin)	エルシトニン (旭化成ファーマ)	<ul style="list-style-type: none"> <li>・1回40単位を原則として1日1回筋注する。</li> </ul>

## II. 開発中の薬剤

薬剤名	商品名	投与方法
Risedronate sodium	ベネット(武田薬品工業) アクトネル(味の素、エーザイ)	・開発中

\*添付文書では骨パジェット病と表記されている

は人種的な集積がみられる。その事実から、骨パジェット病の発症については、slow virus infection説<sup>7)</sup>と遺伝疾患説がある<sup>8)</sup>。

## 臨床症状

骨パジェット病において最も頻度が高い症状は、骨病変由来の疼痛である<sup>9)</sup>。

## 診断

図1は、骨パジェット病の診断のためのフローチャートである。欧米諸国では、骨パジェット病の患者数が多いため、単純X線学的検査で典型的な異常所見と、血清ALP値が高値を示せば、骨パジェット病との診断が可能となっている。一方、わが国では、骨パジェット病は稀な疾患であることから、悪性腫瘍との鑑別のためには、骨生検が必要な場合が多い。

## 画像診断

骨パジェット病では、単純X線学的検査での特徴的な画像所見は、日本骨粗鬆症学会骨Paget病の診断と治療ガイドライン委員会により編纂された骨パジェット病診断アトラス誌に掲載されており、参照されたい<sup>11)</sup>。

## 臨床検査

わが国の調査では、血清ALP値は、骨パジェット病に罹患した日本人の約89.6%において高かった<sup>6)</sup>。血清ALP値は、骨パジェット病を診断するにあたり、重要な検査所見である。しかし、骨パジェット病患者の全例において、血清ALP値が上昇するわけではなく、たとえば、血清ALP値が正常範囲であっても骨パジェット病を否定できないことに留意する。

## 病理診断

骨パジェット病の組織像では、破骨細胞が異常に大きく、その核の数も100個程度のものがみられる<sup>12)</sup>。罹患骨は、骨組織間に豊富な血管網と線維組織で満たされている。その結果、骨強度が低下して、骨の変形や骨折をもたらす。

## 鑑別診断

骨パジェット病と鑑別すべき疾患は、前立腺癌、乳癌の骨転移や骨硬化をもたらす骨系統疾患である。

## 治療

### 1) 薬物療法

骨パジェット病の治療適応は、骨病変由来の疼痛である<sup>13)</sup>。表1は、わが国で認可された骨パジェット病治療薬である。わが国では、現在、エチドロネートおよびカルシトニンの両剤が骨パジェット病の治療薬として認められているにすぎない。

### 2) 整形外科的治療

外科的治療の適応は、不安定性骨折、変形性関節症、悪性軟部腫瘍、骨肉腫<sup>14,15)</sup>、そして骨変形<sup>4)</sup>である。

## 経過観察

治療を要さない中等度以下の骨パジェット病では、年1度、血清ALP値の測定を行う。治療を受けている患者では、3～4ヵ月ごとに、血清ALP値の測定を実施する。画像診断は、変形性関節症や骨折のない症例では、必ずしも繰り返して実施する必要はない。

## 文献

- 1) Paget J. On a form of chronic inflammation of bones (osteitis deformans). *Med Chir Trans* 1877;60:37-63.
- 2) Siris ES, Roodman GD. Paget's disease of bone. In: Favus MJ (eds) *Primer on the metabolic bone*

diseases and disorders of mineral metabolism. Washington DC: The American Society of Bone and Mineral Research; 2003.p.495-506

- 3) Barker DJ. The epidemiology of Paget's disease of bone. *Br Med Bull* 1984;40:396-400.
- 4) Selby PL, Davie MWJ, Ralston SH, Stone MD. Guidelines on the management of Paget's disease of bone. *Bone* 2002;31:366-73.
- 5) Barker DJ. The epidemiology of Paget's disease. *Metab Bone Dis Relat Res* 1981;3:231-3.
- 6) Hashimoto J, Ohno I, Nakatsuka K, Yoshimura N, Takata S, Zamma M, et al. Prevalence and clinical features of Paget's disease of bone in Japan. *J Bone Miner Metab* 2006;24(3):186-90.
- 7) Sofaer JA, Holloway SM, Emery AE. A family study of Paget's disease of bone. *J Epidemiol Community Health* 1983;37:226-31.
- 8) Haslam SI, Van Hul W, Morales-Piga A, Balemans W, SanMillan J, Nakatsuka K, et al. Paget's disease of bone: evidence for a susceptibility locus on chromosome 18q and for genetic heterogeneity. *J Bone Miner Res* 1988;13:911-7.
- 9) Education Slide Program. The Paget Foundation for Paget Disease of Bone and Related Disorders. (<http://www.paget.org/Information/Slide/icon.asp>)
- 10) Takata S, Hashimoto J, Nakatsuka K, Yoshimura N, Yoh K, Ohno I, et al. Guidelines for diagnosis and management of Paget's disease of bone in Japan. *J Bone Miner Metab* 2006;24:359-67.
- 11) 吉川秀樹, 福永仁夫, 中塚喜義, 吉村典子, 高田信二郎, 矢部啓夫ほか. (日本骨粗鬆症学会: 骨 Paget 病の診断と治療ガイドライン委員会): 骨パジェット病アトラス. *Osteoporosis Jpn* 2005;13:1別冊.
- 12) Hosking DJ. Paget's disease of bone. *Br Med J* 1981;283:686-8.
- 13) Langston AL, Ralston SH. Management of Paget's disease of bone. *Rheumatology* 2004;43:955-59.
- 14) Harrington KD. Surgical management of neoplastic complications of Paget's disease. *J Bone Miner Res* 1999;4:45-8.
- 15) Benthien JP, Fuhrmann R, Venbrocks R. The operative management of a malignant proximal humerus tumor represented by secondary Paget's osteosarcoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 1998;124:270-4.

関節マーカーによるヒアルロン酸注入療法の  
有効性予測

山田 治基\* 金治 有彦\* 杉本 春夫\*  
伊達 秀樹\* 市瀬 彦聡\* 前原 一之\*  
早川 和恵\* 中川 研二\*

Prediction of the Effectiveness of Intraarticular Injection of  
High Molecular Weight Hyaluronan for Osteoarthritis of the  
Knee with Biological Markers

Harumoto Yamada, Arihiko Kanaji, Haruo Sugimoto, Hideki Date, Hirofusa Ichinose,  
Kazuyuki Maehara, Kazue Hayakawa, Kenji Nakagawa

臨整外 42 : 321~326, 2007

**Key words** : osteoarthritis (変形性関節症), intraarticular injection therapy (関節内注入療法), hyaluronan (ヒアルロン酸)

ヒアルロン酸(HA)の関節内注入療法は、本邦では約20年の臨床経験が蓄積されており、膝OAに対する代表的な保存療法の1つである。HA特有の副作用は少ないが、関節穿刺という侵襲を伴うので、どのような患者に有効性が高いかは臨床上、重要である。また本法による臨床効果の改善率が30%以下のnon responderは全体の34%ほど存在するので、無駄な医療行為を避けるためにも本法の有効性を予測することが必要である。注入前の関節液中マーカーと臨床症状改善の関係を検討したところ、注入前のHA結合型アグリカン濃度と1カ月後の膝スコアの改善度は正の相関を認めた。この結果は軟骨が残存し、その軟骨組織が活発に代謝している症例で本法の有効性が高いことを示している。血中マーカーであるcartilage oligomeric matrix protein (COMP)と臨床症状改善の間には有意な関係は認められず、HA注入療法の有効性予測には関節液マーカーが血清マーカーより有用であった。

## 何故、有効性予測が必要か

ヒアルロン酸(HA)の関節内注入療法は1970年代からPeyronら<sup>10)</sup>がviscosupplementationと称して、劣化したHAのかわりに新規のHA製剤を注入する治療法として変形性膝関節症(膝OA)に対して施行されてきた。本邦では分子量約90万の鶏冠由来HA製剤(アルツ)による約20年の臨床経験が蓄積されており、膝OAに対する代表的な保存療法の1つとなっている。一般的にHA製

剤特有の副作用は少ない。偽痛風の悪化などの特殊例を除くと、最も多いのは穿刺部位の疼痛であり、1~2%の発生率が報告されている。本製剤ではステロイド剤と異なり、医原性の化膿性関節炎を起こすことは少ないが、関節穿刺という侵襲を伴うので、どのような患者に有効性が高いかは臨床上、重要な点である。本法により持続的な臨床効果を得るためには、週1回の頻度で4~5回以上の注入が必要である。通常、2~3回の注入後から疼痛などの改善を認めるが、4~5回の連続注入を行っても改善が得られない場合は、さらに数回

\* 藤田保健衛生大学整形外科〔〒470-1192 愛知県豊明市沓掛町田楽ヶ窪 1-98〕Department of Orthopaedic Surgery, Fujita Health University

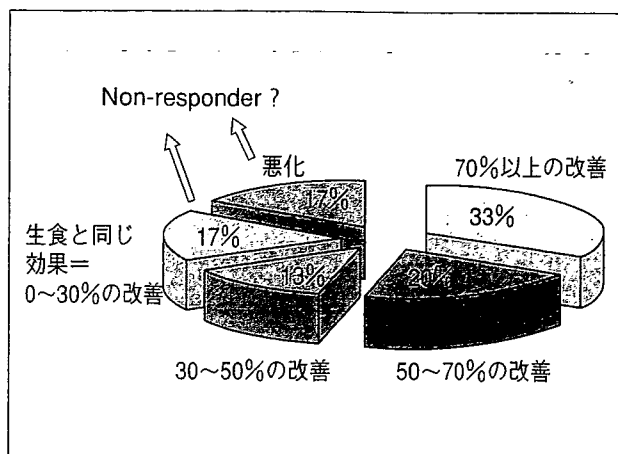


図1 膝OAに対するHA注入療法の効果—疼痛VAS改善度(%)  
分子量90万のHAを週1回、5回注入した後の疼痛VAS改善度(%)を示す。

の追加注入を行うことが多い。HA製剤の膝OAに対する臨床成績については、使用するHA製剤の分子量、注入頻度、コントロールの有無、評価法などによって大きく異なるが、概して4～5回の連続注入により、約60～70%の症例に、有効であるとする報告が多い<sup>11)</sup>。われわれの調査では本法により臨床効果の改善率が30%以下の症例が全症例の17%、悪化例も17%ほど存在する。生食の関節内注入でもプラセボ効果により約30%の臨床症状改善は得られるので、合わせて34%の症例は本法に対するnon responderということになる(図1)。数回にわたる注入療法を行った後に無効であったという結果を得るより、事前に本法の有効性の予測ができれば、無駄な医療行為をしなくて済む。

## 患者背景からの有効性予測

膝OAに対するHA注入療法がどのような患者に有効性が高いかについては種々の報告がある。OA病期、年齢、関節液貯留の有無、罹病期間、臨床症状などが本法の有効性に関与するとされている。一般的にX線上のOA病期については、末期よりも初期や進行期までの膝OAに有効性が高いとする報告がほとんどである<sup>1,7,8)</sup>。すなわち進行例には本法の有効性は低い。

年齢の影響については報告によって異なる。

Altmanら<sup>1)</sup>は分子量50～73万の製剤であるHyalganを使用した検討で、65歳未満の群では疼痛VASの改善が65歳以上より良好であったとしている。Namikiら<sup>8)</sup>は分子量90万のHA製剤を使用した検討では年齢と臨床効果に明らかな関係はないと報告している。一方、Lohmanderら<sup>6)</sup>は、分子量100万のHA製剤を使用した症例を疼痛VASで評価した結果、60歳以上で、かつLequesne index 10以上の臨床症状の高度な症例で有効であったとしている。

関節液の貯留も本法の成績に大きな影響を与える因子である。Lussierら<sup>7)</sup>は分子量600万の架橋HA製剤を使用した検討で、注入開始前に明らかな関節液貯留のある群では、臨床症状改善がbetterまたはmuch betterが71%、much worseが7.3%であったのに対して、貯留のなかった群ではbetterまたはmuch betterが70%、much worseが1.1%であったことから、関節液貯留の多い患者での使用に疑問を投げかけている。Namikiら<sup>8)</sup>も分子量90万のHA製剤を使用した検討で、同様に関節液貯留の少ない例で有効であったことを報告している。Altmanら<sup>1)</sup>の検討でもentry時に関節液貯留のない群で疼痛VASの改善が良好なことを報告している。

臨床症状については、一般的に疼痛などの高度な症例で有効性が高いという報告が多い。Altmanら<sup>1)</sup>の検討では、注入開始時に臨床症状がmoderateであった群では疼痛VAS改善が6.3mmであったのに対して、severeであった群では11.8mmであったとしている。Lohmanderら<sup>6)</sup>の検討でも、Lequesne index 10以上の臨床症状の高度な症例でより有効であることが報告されている。

## HA注入療法が関節マーカ－に与える影響

家兎などの動物を使用したOAモデルではHAは明らかな軟骨保護作用を示す<sup>3,14)</sup>。また、少数ではあるが、臨床的にHA関節内注入療法の抗OA効果(structure modifying effect)を示した報告も散見される<sup>4,5)</sup>。関節液などに含有される各種の分子(関節マーカ－)の測定によって、HAの関節内注入療法がOAの病態にいかなる影響を与えている

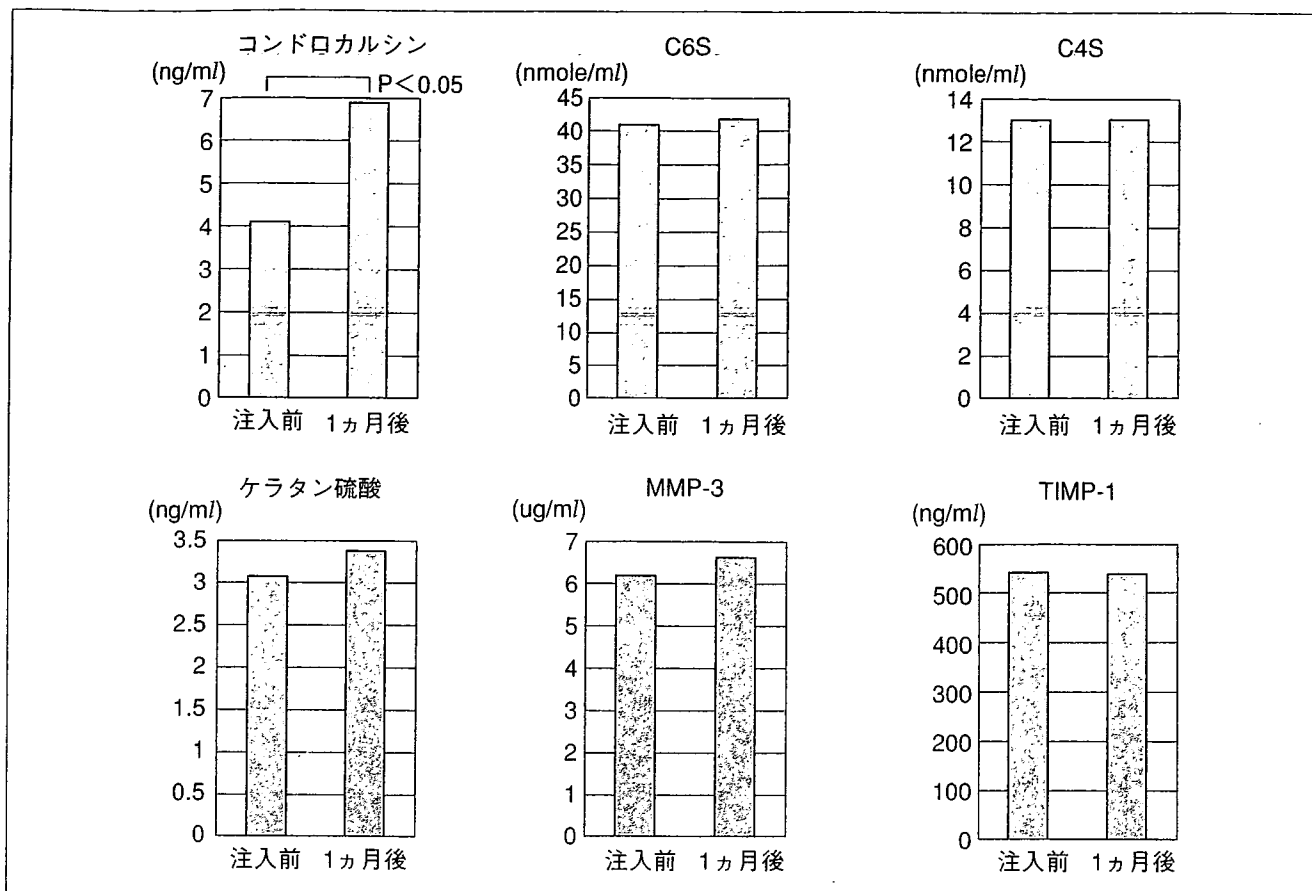


図 2 HA 注入療法前後のマーカー変動

分子量 90 万の HA を週 1 回、5 回注入した前後に関節液を採取し、各マーカーを測定した結果である(文献 13 から改変, 引用).

C6S : コンドロイチン 6 硫酸    C4S : コンドロイチン 4 硫酸

MMP-3 : matrix metalloproteinase-3    TIMP-4 : tissue inhibitor of metalloproteinase-1

かが検討されてきた<sup>2,9,12,13</sup>). 並木ら<sup>9</sup>)は本法後に関節液中のコンドロイチン 6 硫酸/HA が低下すること、この低下は臨床症状改善が良好な群で著明であることを報告している。筆者ら<sup>13</sup>)も分子量 90 万の HA 製剤を 5 回、注入した後の各種マーカーの変動を検討した。その結果、コンドロイチン 6 硫酸、同 4 硫酸、ケラタン硫酸、matrix metalloproteinase(MMP)-3, tissue inhibitor of metalloproteinase(TIMP)-1 については有意の変動がないが、コンドロカルシン(p COL-II C)だけは有意に上昇することを認めた(図 2)。

コンドロカルシンは II 型コラーゲンの合成に際して放出されるタンパクであることから、HA 注入により軟骨の修復機転が亢進するものと考えた。ただし、この検討では、コンドロイチン 6 硫酸、同 4 硫酸、ケラタン硫酸などのアグリカンの

代謝に関係するマーカーに有意の変動がなかった。変動が検知できなかったことについて、コンドロイチン硫酸やケラタン硫酸は関節軟骨以外の関節包や靭帯にも存在するため、関節軟骨に対する特異性が低いことが原因の 1 つと考え、より関節軟骨に特異性の高い HA 結合型アグリカンを関節液内で測定した。32 例 44 関節に施行した HA 注入療法群を新たに検討した結果、80 歳以上の群では注入開始後 8 週には HA 結合型アグリカンが低下傾向を示した(図 3)。前項で患者年齢と本法の有効性については様々な関係が報告されていることを述べたが、本法の OA 病態に与える影響については、高齢者でより明らかである可能性を示唆している。

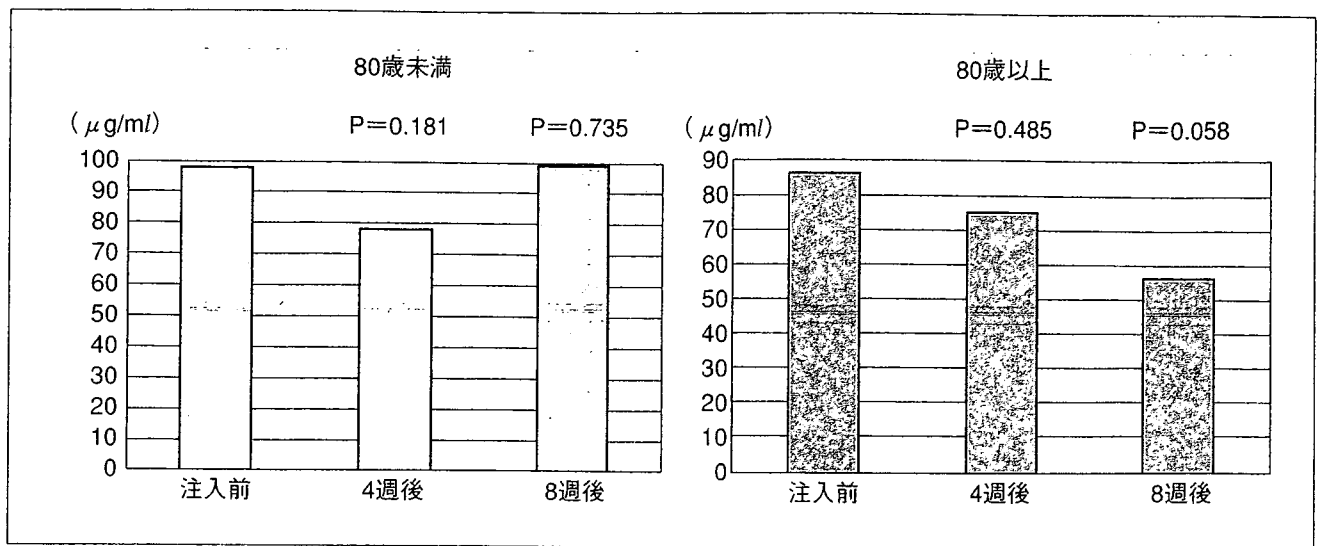


図3 HA注入療法前後の関節液中HA結合型アグリカン濃度  
分子量90万のHAを週1回注入した前後に関節液を採取し、各マーカーを測定した結果である(P値はvs注入前)。

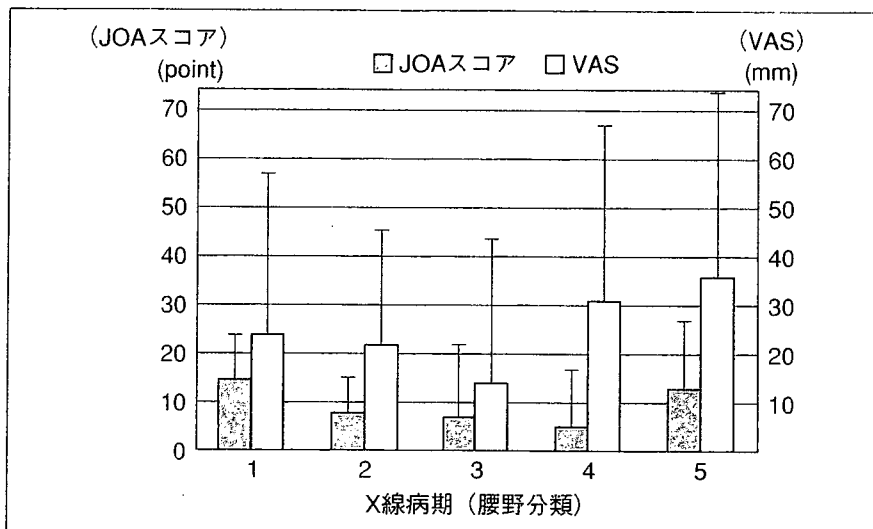


図4 X線病期と1カ月後のJOAスコア、疼痛VAS改善の関係  
分子量90万のHAを週1回注入し、1カ月後と注入前のJOAスコア、疼痛VASの改善をX線病期別に示した(文献12より引用)。

## 関節マーカーによるHA注入療法の有効性予測

上記の44関節について、HA注入療法の臨床効果をJOA膝スコアと疼痛VASで評価した。X線上の病期とJOA膝スコアおよび疼痛VASの改善の関係を検討した。その結果、JOA膝スコアおよび疼痛VASの改善とともにX線病期とは明らかな関係を示さなかった(図4)。すなわち、本シリーズではX線所見でHA注入療法の有効性を予測することは困難であった。次に注入開始前の関節液中に存在するHA結合型アグリカン濃度と注入1カ月後(5回注入時)のJOA膝スコアおよび疼

痛VASの改善の関係を回帰分析により検討した結果、HA結合型アグリカン濃度とJOA膝スコア改善間には有意の正の関係が認められた<sup>12)</sup>(図5)。関節液中アグリカン濃度は残存する関節軟骨の量が多いほど高く、同時に残っている軟骨細胞が活発に代謝しているほど高値を示すアグリカン代謝回転の指標である。本結果は、HA注入療法は、関節軟骨が残存しており、かつ残存している軟骨細胞が活発に機能している症例で有効であることを示唆している。同様の有効性予測を血清中の軟骨代謝回転マーカーであるcartilage oligomeric matrix protein(COMP)によって可能か否かを検討した。その結果、注入前の血清中COMPと

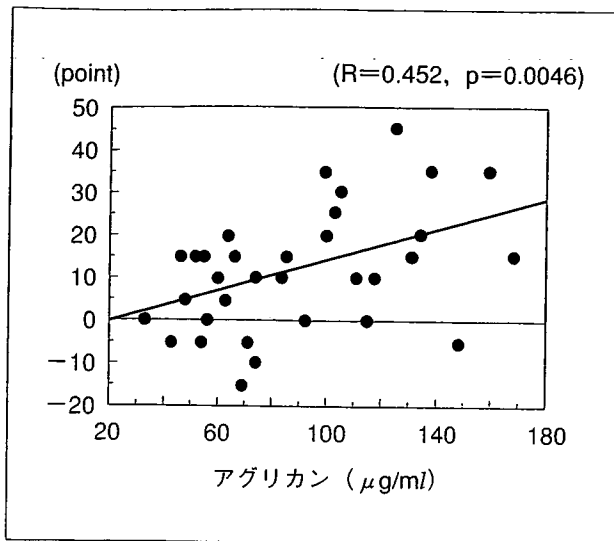


図5 注入前の関節液中 HA 結合型アグリカン濃度と注入1カ月後のJOA膝スコアの関係  
HA注入開始前の関節液中に存在するHA結合型アグリカン濃度と注入1カ月後のJOA膝スコアの関係  
を回帰分析により検討した(文献12より引用)。

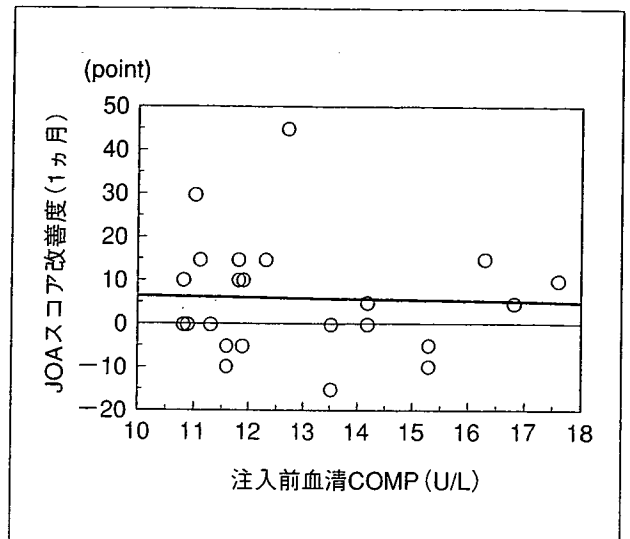


図6 注入前の血清中COMP濃度と注入1カ月後のJOA膝スコアの関係  
HA注入開始前の血清中COMP濃度と注入1カ月後のJOA膝スコアの関係  
を回帰分析により検討した。

注入1カ月後のJOA膝スコアの改善点数の間には相関は認められなかった(図6)。血清中マーカーは関節穿刺という侵襲を加えなくとも測定可能であり、患者にとっての負担が少ないという利点がある。ただし、罹患関節の病態をCOMPなどの血清マーカーがどの程度、正確に反映するかについては明らかでない。本シリーズでも血清COMPではHA注入療法の有効性は予測できなかった。

## まとめ

HA注入療法については臨床的なエビデンスが少ない。臨床家は経験的に本法がどのような患者に有効かを体得し、その適応を各々で決定しているのが現状である。本法は関節穿刺を伴う治療法であるので、何らかの基準をもって治療に臨むべきである。膝OAの診療ガイドラインの中でHA注入療法がどのような位置づけになるかは未定であるが、マーカーを応用した評価、適応決定もエビデンス確立の一助となると思われる。

## 文献

1) Altman RD, Moskowitz R : Intraarticular sodium hyaluronate (Hyalgan) in the treatment of patients

with osteoarthritis of the knee : a randomized clinical trial. *J Rheumatol* 25 : 2203-2212, 1998

2) 雨宮雷太, 並木 脩, 藤巻悦夫・他 : 変形性膝関節症に対するヒアルロン酸ナトリウム関節内注入療法と関節液成分動態. X線グレードによる経時的変化. *医学と薬学* 45 : 105-109, 2001

3) Kikuchi T, Yamada H, Shimmei M, et al : Effects of high molecular weight hyaluronan on cartilage degeneration in a rabbit model of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 4 : 99-110, 1996

4) Llistrat V, Ayrat X, Patarnello F, et al : Arthroscopic evaluation of potential structure modifying activity of hyaluronan (Hyalgan) in osteoarthritis of the knee. *Osteoarthritis Cartilage* 5 : 153-160, 1997

5) Jubb RW, Piva S, Beinat L, et al : A one-year, randomised, placebo (saline) controlled clinical trial of 500-730kDa sodium hyaluronate (Hyalgan) on the radiological change in osteoarthritis of the knee. *Int J Clin Practice* 57 : 467-474, 2003

6) Lohmander LS, Dalen N, Englund G, et al : Intra-articular hyaluronan injections in the treatment of osteoarthritis of the knee : a randomised, double blind, placebo controlled multicentre trial. *Ann Rheum Dis* 55 : 424-431, 1996

7) Lussier A, Cividino AA, McFarlane CA, et al : Viscosupplementation with Hylan for the treatment of osteoarthritis : Findings from clinical practice in Canada. *J Rheumatol* 23 : 1579-1585, 1996

8) Namiki O, Toyoshima H, Morisaki N : Therapeutic effect of intra-articular injection of high molecular weight hyaluronic acid on osteoarthritis of the knee. *Int J Clin Pharmacol Therapy Toxcol* 20 : 501-507, 1982

- 9) 並木 脩, 栗山節郎, 前田 浩・他: 変形性膝関節症に対するヒアルロン酸ナトリウム関節内注入療法における関節液中の生化学的マーカーの変動. 関節の外科 **21**: 131-137, 1994
- 10) Peyron JG, Balazs EA: Preliminary clinical assessment of Na hyaluronate injection into human arthritic joints. Pathol Biol **22**: 731-736, 1974
- 11) 宗圓 聡: 変形性関節症の保存療法. ヒアルロン酸の関節内注射. 関節外科 **21**: 175-179, 2002
- 12) Sugimoto H, Yamada H, Terada N, et al: Intra-articular injection of high molecular weight hyaluronan for osteoarthritis of the knee—prediction of the effectiveness with biological markers. J Rheumatol **12**: 2527-2531, 2006
- 13) Yamada H, Yoshihara Y, Kobayashi T, et al: Intra-articular injection therapy with high-molecular weight hyaluronan for osteoarthritis of the knee joint. Effects on joint fluid markers. Orthopaedic Int Ed **5**: 117-121, 1997
- 14) 山田治基, 菊地寿幸: ヒアルロン酸の効果. 先端医療シリーズ 22. 整形外科の最新医療. 先端医療技術研究所, 東京; pp92-97, 2003

## INFORMATION

### 第 105 回 東北整形災害外科学会 (The 105th Annual Meeting of The Tohoku Society for Orthopaedic Surgery and Traumatology)

会 期: 2007 年 6 月 29 日(金)・30 日(土)  
 会 場: コラッセふくしま(〒960-8053 福島市三河南町 1-20)  
 TEL 024-525-4089 <http://www.corasse.jp/>  
 会 長: 菊地 臣一(福島県立医科大学副理事長兼附属病院長)  
 ホームページ: <http://105tsost.jtbcom.co.jp/index.html>  
 プログラム: [特別講演]

野村 一俊(国立病院機構熊本医療センター): 「大腿骨頸部・転子部骨折における地域提携クリティカルパスと今後の地域医療の方向性」

宗像 雄(関谷法律事務所): 「逆風の時代」の医療機関ないし医療従事者の法的責任～近年の最高裁判例を素材にして

[ランチョンセミナー]

石黒 隆(いしぐる整形外科): 「上肢の外傷に対するプライマリケア—早期運動療法の有用性について」

片田 重彦(かただ整形外科): 「非特異的腰痛に対する AKA—博田法」

[一般演題(口演)※公募]

参加登録: 学会当日に会場にて受付を行う。

参加登録料: 医師 7,000 円

初期臨床研修医(2 年以内) 3,000 円

事務局: 第 105 回東北整形災害外科学会 事務局  
 公立大学法人 福島県立医科大学医学部整形外科学講座  
 〒960-1295 福島市光が丘 1  
 TEL: 024-547-1276/FAX: 024-548-5505

第 105 回東北整形災害外科学会 運営事務局(演題申込・問合せ先)

(株)ジェイコムコンベンション事業本部内

〒530-0001 大阪市北区梅田 2-2-22 ハービス ENT 11 階

TEL: 06-6348-1391(代)/FAX: 06-6456-4105

E-mail: 105tsost@jtbcom.co.jp



## 軟骨破壊と MMP

吉原 愛雄\* 山田 治基\*\*

マトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) は、2価の金属イオンを活性中心に有する中性プロテアーゼであり、細胞外マトリックス (ECM) の分解を担う主要な酵素群である。MMP の多くはコラーゲンやアグリカンなどの軟骨 ECM の分解能を有し、関節リウマチ (RA) 患者の関節液、血清中には高濃度の MMP が産生されている。MMP は RA における軟骨破壊で重要な役割を担っていると考えられており、特に血清中の MMP-3 は RA の関節病態マーカーとして臨床的有用性が確立されつつある。本稿では、MMP の基礎的事項を中心に、RA 軟骨破壊における MMP の役割を概説する。

### *Matrix Metalloproteinases and Cartilage Matrix Degradation in Rheumatoid Arthritis.*

*National Defense Medical College, Department of Orthopaedic Surgery  
Yasuo Yoshihara*

*Fujita Health University, School of Medicine, Department of Orthopaedic Surgery  
Harumoto Yamada*

Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic systemic inflammatory disorder characterized by the progressive destruction of articular cartilage. Matrix metalloproteinases (MMPs) constitute a major group among the neutral proteinases that degrade the extracellular matrix of cartilage, including various types of collagen, and aggrecan. Various MMPs are highly produced in synovial fluid and in sera from patients with RA, and are reported to play a pivotal role in cartilage matrix degradation in RA. In this review we describe the members of the MMP family and their basic function, and discuss their role in cartilage destruction in RA.

はじめに  
関節軟骨は、II型コラーゲンとプロテオグリカ

ン(アグリカン)を主成分とする細胞外マトリックス (ECM) に軟骨細胞を低密度に包含したもので、

\*防衛医科大学校整形外科学講座・講師 (よしはら・やすお)

\*\*藤田保健衛生大学整形外科学講座・教授 (やまだ・はるもと)

血管, 神経, リンパを欠く組織である。II型コラーゲンとアグリカン, 他の ECM 成分とともにネットワークを構築し, さらに, 陰性荷電したアグリカンは水分子と結合することにより, 弾性, 柔軟性, 低摩擦性といった軟骨特有の物理特性を形成する。このような特性を有する関節軟骨は, 荷重伝達と円滑な可動性という関節固有の機能を担う重要な組織であり, その破壊は関節機能の著しい障害を招来する。さらに, 軟骨組織は自己修復能に乏しいため, 関節リウマチ (RA) の治療に際しては, 早期より軟骨破壊の予防に努めることが重要である。

軟骨 ECM の分解は, さまざまなタンパク分解酵素により行われるが, マトリックスメタロプロテアーゼ (matrix metalloproteinase : MMP) はその主要な酵素と考えられている。MMP は 2 価の金属イオンを活性中心に有するメタロプロテアーゼ (metalloproteinase) 群に属する酵素であり, ヒトでは 23 の分子種が報告されている。MMP の多くは軟骨 ECM の分解能を有し, さらに, RA 患者の関節液中には高濃度の MMP が産生されていることから<sup>1)</sup>, MMP は RA における軟骨破壊で重要な役割を担っていると考えられる。一方, 筆者ら<sup>2)</sup>は, MMP の一酵素であるストロムライシン 1 (stromelysin-1 ; MMP-3) の血清中濃度が RA で高値を示すことを見出し, 関節炎症の指標となることを報告したが, 血清中の MMP-3 濃度は今日, RA 診療における検査項目の一つとしてその有用性が確立されつつある。

本稿では, MMP の基礎的事項を中心に, RA における軟骨破壊との関連を概説する。

## MMP の分子構造と活性化

MMP の基本構造は, 約 80 アミノ酸からなる

プロペプチド, 約 170 アミノ酸からなる活性ドメイン, および約 200 アミノ酸からなるヘモペキシンドメインの 3 種から構成される (図 1)<sup>3)4)</sup>。共通する配列として, プロペプチドには PRGXPDP というシステインスイッチと呼ばれる配列<sup>5)</sup>が, また, 活性ドメインには HEXXHXXGXXH という亜鉛 ( $Zn^{2+}$ ) 結合領域が存在する。一部の MMP は細胞膜貫通 (或いは固定) ドメインを有し, これらは膜型 MMP と呼ばれ, 細胞膜上で基質を分解する。これら膜型 MMP と一部の MMP は, プロペプチドと活性ドメインの境界部に, 細胞内酵素であるフェーリンで認識される配列 RX [R/K] R を有しており, 細胞内でプロペプチドが切り離され活性化されると考えられている。

これら細胞内で活性化される一部の酵素を除き, 一般に, MMP はプロペプチドを結合した潜在型酵素 (pro-MMP) として細胞外に分泌される。pro-MMP は, プロペプチド内のシステインスイッチが活性中心の  $Zn^{2+}$  と結合することにより, 酵素の不活性化を維持している。pro-MMP は, 生体内ではプラスミンなどのセリンプロテアーゼやカテプシン B などのシステインプロテアーゼの作用により, 段階的にプロペプチドが切り離され活性型 MMP となり, 分子構造の変化をきたして固有の基質特異性を発揮する。一部の活性型 MMP には, 他の MMP の活性化能を有することが知られており, 活性化のカスケードを介して ECM 分解を進行させる。

活性型 MMP は, 組織中では MMP の特異的インヒビターである tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP) によりその活性が調節されている。ヒトでは 4 種類の TIMP (TIMP-1, 2, 3, 4) が知られており, いずれも 1 対 1 のモル比で MMP と結合し, その活性を阻害する。TIMP-1

ECM : 細胞外マトリックス, MMP : matrix metalloproteinase (マトリックスメタロプロテアーゼ), RA : 関節リウマチ, TIMP : tissue inhibitor of metalloproteinases,  $Zn^{2+}$  : 亜鉛

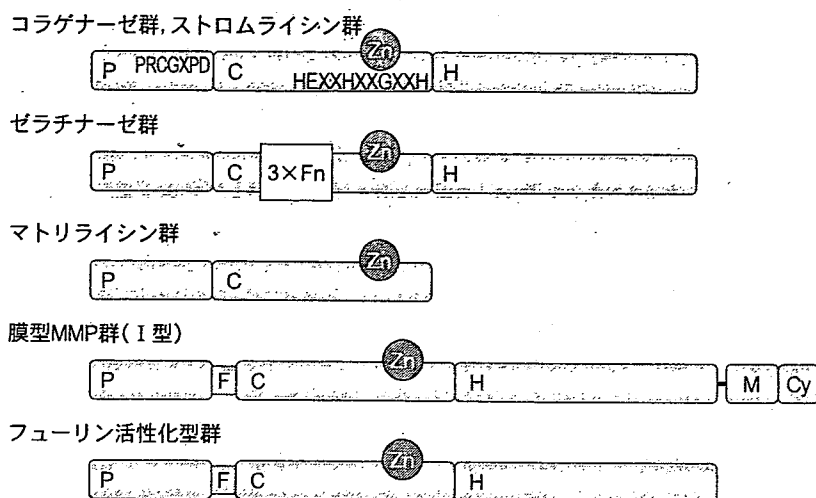


図1 主な MMP の分子構造

MMPの基本構造は、プロペプチド、活性ドメイン、ヘモベキシンドメインから構成される。フューリン認識構造を有するMMPは、細胞内でプロペプチドが切り離され、細胞外へ放出されるが、他のMMPはプロペプチドを含む潜在型MMPとして産生され、プラスミンなどの酵素によりプロペプチドが切り離されて酵素活性を発揮する。

C：活性ドメイン，Cy：細胞質ドメイン，F：フューリン認識ドメイン，Fn：フィブロネクチンドメイン，H：ヘモベキシンドメイン，M：膜貫通ドメイン，MMP：マトリックスメタロプロテアーゼ，P：プロペプチド，Zn：亜鉛

(文献3より改変)

は膜型MMPに対する活性は弱く、一方TIMP-3は、近年アグリカン分解の主要酵素として同定されたアグリカナゼに対する阻害活性を有することが報告されている<sup>5)</sup>。また、一部のMMPは、pro-MMPの状態ではTIMPと結合しており(pro-MMP-TIMP複合体)、他のMMPの活性調節に寄与している。

## ■ MMPの分類と軟骨ECM分解における役割(表1)

### 1. コラゲナーゼ群(MMP-1, 8, 13)

コラゲナーゼ群(MMP-1, 8, 13)は、3本螺旋構造を持つコラーゲン分子(I, II, III型コラーゲンなど)を、N末端から4分の3の部位で切断する酵素群である。MMP-1はIII型コラーゲンに対する親和性が強いが<sup>3)</sup>、MMP-13は軟骨特異的

コラーゲンであるII型コラーゲンの分解活性が高い。MMP-13の過剰発現マウスでは変形性関節症(OA)様の変化を生じ<sup>6)</sup>、遺伝子変異により脊椎骨端異形成症(spondyloepiphyseal dysplasia: SED)が生じることから<sup>7)</sup>、MMP-13はOAの軟骨破壊や骨格形成で重要な役割を担っていると考えられている。一方、RAでは滑膜組織中でもMMP-13の発現が認められ、組織学的に炎症が強い滑膜で発現が亢進していることが報告されている<sup>8)</sup>。

### 2. ゼラチナーゼ群(MMP-2, 9)

ゼラチナーゼ群(MMP-2, 9)は、ゼラチン、IV型コラーゲンなどの分解活性を有する酵素群である。MMP-2はコラゲナーゼ群と同様にI, II,

OA：変形性関節症，SED：spondyloepiphyseal dysplasia (脊椎骨端異形成症)

表1 MMPの分類と主な基質

MMP	酵素名	主な基質
1. コラゲナーゼ群 MMP-1 MMP-8 MMP-13	組織コラゲナーゼ 好中球コラゲナーゼ コラゲナーゼ-3	I, II, III, VII, VIII, X型コラーゲン, ゼラチン, アグリカン, リンクタンパク I, II, III, V, VII, VIII, X型コラーゲン, ゼラチン, アグリカン I, II, III, VI, IX, X, XIV型コラーゲン, ゼラチン, アグリカン, パールカン
2. ゼラチナーゼ群 MMP-2 MMP-9	ゼラチナーゼA ゼラチナーゼB	I, II, III, IV, V, VII, X, XI, XIV型コラーゲン, ゼラチン, エラスチン アグリカン, リンクタンパク, pro-IL-1 $\beta$ , pro-MMP-9, 13 IV, V, VII, X, XIV型コラーゲン, ゼラチン, エラスチン, アグリカン pro-IL-1 $\beta$ , pro-TGF $\beta$
3. ストロムライシン群 MMP-3 MMP-10	ストロムライシン-1 ストロムライシン-2	アグリカン, リンクタンパク, テコリン, III, IV, V, IX, X型コラーゲン ゼラチン, パールカン, フィブロネクチン, オステオネクチン pro-IL-1 $\beta$ , pro-MMP-1, 7, 8, 9, 13 アグリカン, リンクタンパク, III, IV, V型コラーゲン, pro-MMP-1, 8, 13
4. マトリライシン群 MMP-7 MMP-26	マトリライシン-1 マトリライシン-2	アグリカン, リンクタンパク, テコリン, IV型コラーゲン, ゼラチン エラスチン, フィブロネクチン, pro-TNF $\alpha$ , RANKL, pro-MMP-2, 9 IV型コラーゲン, ゼラチン, フィブロネクチン, pro-MMP-9
5. 膜型 MMP 群 1) I型膜貫通型 MMP-14 MMP-15 MMP-16 MMP-24 2) GPI アンカー型 MMP-17 MMP-25 3) II型膜貫通型 MMP-23	MT1-MMP MT2-MMP MT3-MMP MT5-MMP MT4-MMP MT6-MMP	I, II, III型コラーゲン, ゼラチン, アグリカン, フィブロネクチン pro-MMP-2, 13 ゼラチン, アグリカン, フィブロネクチン, pro-MMP-2 III型コラーゲン, ゼラチン, フィブロネクチン, pro-MMP-2 ゼラチン, プロテオグリカン, pro-MMP-2 ゼラチン IV型コラーゲン, ゼラチン, フィブロネクチン, pro-MMP-2 ゼラチン
6. フェーリン活性化型群 MMP-11 MMP-21 MMP-28	ストロムライシン-3 エピライシン	カゼイン, フィブロネクチン 詳細不明 カゼイン
7. その他 MMP-12 MMP-19 MMP-20 MMP-27	メタロエラスターゼ RASI-1 エナメライシン	エラスチン, IV型コラーゲン, ゼラチン, フィブロネクチン IV型コラーゲン, ゼラチン, アグリカン, COMP アメロジェニン ゼラチン, カゼイン

COMP : cartilage oligomeric matrix protein, GPI : glycosyl phosphatidyl inositol, IL-1 : インターロイキン, MMP : マトリックスメタロプロテアーゼ, MT : membrane type, RANKL : receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand, RASI : rheumatoid arthritis synovial inflammation, TGF : transforming growth factor, TNF : tumor necrosis factor

(筆者ら作成)

Ⅲ型コラーゲンの分解能を有しており、MMP-9 やMMP-13の活性化にも関与し得る。pro-MMP-2は、TIMP-2,-3,-4と、pro-MMP-9はTIMP-1とそれぞれ結合し、他のMMPの阻害活性を有している。Itohら<sup>9)</sup>は、MMP-2およびMMP-9の遺伝子欠損マウスを用いた抗体誘発性関節炎モデルの検討から、MMP-2は関節炎を抑制し、MMP-9は関節炎の発生に関与していると報告しており、これら酵素の役割には尚不明な点が残されている。

### 3. ストロムライシン群 (MMP-3, 10)

ストロムライシン群 (MMP-3, 10) は、アグリカン、リンクタンパクなど、幅広いECM成分を分解する酵素群である。特にMMP-3は、軟骨コラーゲンネットワークの構築上重要なⅡ型コラーゲン分子間架橋やⅨ型コラーゲンの分解能を有し、種々のMMP (MMP-1, 7, 8, 9, 13)の活性化能を有することから、軟骨破壊のkey enzymeと考えられてきた。アグリカナラーゼの同定以来<sup>10)</sup>、軟骨アグリカン分解の主要酵素の座を奪われつつあるが、RAの軟骨破壊においては、MMP-3は重要な役割を担っていると考えられる(後述)。近年、MMP-10にもMMP-3に類似した機能があることが示唆されている<sup>11)</sup>。

### 4. マトリライシン群 (MMP-7, 26)

マトリライシン群 (MMP-7, 26) は、ヘモペキシンドメインを欠く短いMMP群である。MMP-7はストロムライシン群と同様の幅広い基質特異性を有し、OAにおける軟骨破壊への関与が示唆されているが、未だ不明な点が多い。

### 5. 膜型 MMP 群

膜型 MMP 群 (Ⅰ型膜貫通型：MMP-14, 15,

16, 24, GPIアンカー型：17, 25, Ⅱ型膜貫通型：MMP-23) は、細胞膜貫通構造またはglycosylphosphatidylinositol (GPI) アンカーを有する酵素群であり、細胞膜に結合して細胞周囲のタンパク分解を行うため、細胞増殖、アポトーシス、分化、浸潤などにおいて重要な役割を果たしていると考えられている。フューリンにより細胞内で活性化され細胞膜上に局在する。MMP-14はMMP-2, 13の活性化にも関与し、さらにⅡ型コラーゲンの分解能を有することから、軟骨破壊における役割は大きいと考えられている。MMP-23は、膜貫通構造をプロペプチドに有する特殊な膜型MMPであり、他の膜型MMPと異なり細胞膜から切り離された後、酵素活性を発揮する。

### 6. フューリン活性化型群 (MMP-11, 21, 28)

フューリン活性化型群 (MMP-11, 21, 28) は、膜型MMPと同様、フューリンにより細胞内で活性化される酵素群である。MMP-11は、ストロムライシン3と呼ばれるが、酵素活性、基質特異性ともに他のストロムライシンとは異なる。MMP-28は、OAやRAの軟骨中で発現が亢進していると報告されている<sup>12)</sup>。

### 7. その他 (MMP-12, 19, 20, 27)

MMP-12, 19, 20, 27は、上記分類に当てはまらない酵素群であり、詳細が明らかにされていないMMPも含まれる。MMP-12は主にマクロファージから産生される酵素であり、近年、他のMMPの活性化能を有することが報告され、RAの病態形成における役割も示唆されている<sup>13)</sup>。

## RAにおける軟骨破壊とMMP (図2)

軟骨破壊はあらゆる関節疾患に随伴する共通の病態であるが、破壊の様式はさまざまである。大

GPI : glycosylphosphatidylinositol

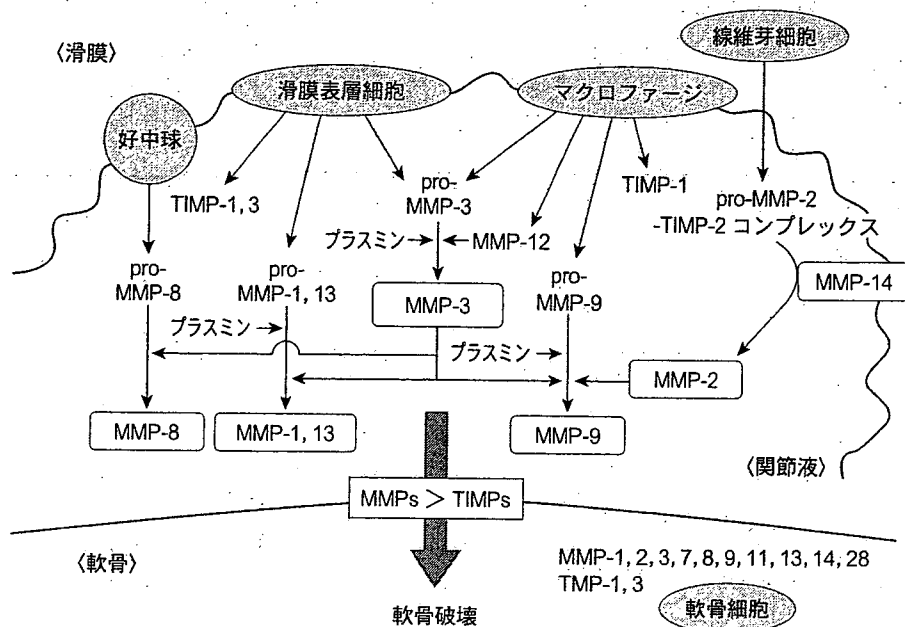


図2 RA 軟骨破壊とMMP

滑膜表層細胞およびマクロファージから産生された MMP-3 は、他の MMP (MMP-1, 7, 8, 9, 13) の活性化能を有し、軟骨破壊を進行させる。一方、pro-MMP-2 は TIMP-2 と結合しており、MMP-14 により活性化され、MMP-9 および MMP-13 の活性化に関与する。RA の関節内には過剰な MMP が産生されており、TIMP とのアンバランスが生じている。

MMP: マトリックスメタロプロテアーゼ, RA: 関節リウマチ, TIMP: tissue inhibitor of metalloproteinase (筆者ら作成)

別して内因性破壊と外因性破壊に分類され、前者は、軟骨細胞の代謝変動など軟骨自体が破壊の主因となるもので、変形性関節症が代表的疾患である。後者は、軟骨以外の病因、多くは滑膜炎などの病態により軟骨破壊が生じるもので、RA を代表とする炎症性関節疾患の破壊様式と考えられる。

関節内の主な MMP の産生は、滑膜表層細胞から MMP-1, 3, 13, 14 などが、滑膜深層の線維芽細胞からは MMP-2 が産生される。また、マクロファージからは MMP-3, 9, 12 が、好中球からは MMP-8, 9 が産生される。さらに、RA 滑膜組織中の遺伝子発現の検討では、そのほかにも MMP-10, 11 などの産生が確認されている。

外因性軟骨破壊を主とする RA では、滑膜組織

から産生された MMP は、関節液を介して軟骨 ECM 破壊に関与する。筆者ら<sup>11)</sup>は、関節液中の種々の MMP およびそのインヒビターである TIMP 濃度を検討した結果、RA 患者の関節液中では、MMP-1, 2, 3, 8, 9 が OA 患者に比較して極めて高濃度であり(表2)、また、MMP の総濃度は TIMP の総濃度に比較して、RA では約 45 倍、OA でも約 8 倍のアンバランスが存在することを報告した。これら酵素とインヒビターのアンバランスが RA 軟骨破壊の一病態と考えられる。

種々の MMP が軟骨破壊に関与し得ることは明らかであるが、破壊に寄与する程度は明らかな見解が得られていない。しかしながら、関節液中の MMP-3 は他の MMP に比較して、RA では数十倍以上、OA でも 10 倍以上の高濃度で存在し(表

表2 RA, OA 患者の関節液中 MMP, TIMP 濃度 (平均 ± 標準偏差 (nmol/L))

RA 患者の関節液中の MMP-1, 2, 3, 8, 9 濃度は, OA 患者に比較して有意に高値を示した。また, MMP-3 は, 他の MMP に比較して RA では数十倍以上, OA でも 10 倍以上の高濃度で存在しており, 軟骨破壊における MMP-3 の役割は大きい。

	RA	OA	p 値*
MMP-1	35.1±24.8	5.74±5.17	p < 0.001
MMP-2	28.7±8.3	20.3±7.7	p < 0.001
MMP-3	1,980±1,360	282±53	p < 0.001
MMP-7	1.95±3.61	0.77±1.52	NS
MMP-8	13.2±18.6	ND	p < 0.001
MMP-9	10.6±14.8	ND	p < 0.001
MMP-13	0.05±0.04	0.02±0.07	NS
TIMP-1	47.4±24.9	28.9±15.4	p < 0.001
TIMP-2	7.22±1.76	6.93±1.75	NS

\* RA, OA 間の差の有意性

MMP: マトリックスメタロプロテアーゼ, ND: 検出限界以下, NS: 有意性なし, OA: 変形性関節症, RA: 関節リウマチ, TIMP: tissue inhibitor of metalloproteinase (文献 1 より改変)

2), 抗原誘発性関節炎モデルでは, 関節内における MMP-3 遺伝子は他の MMP に比較して過剰に発現されることが報告されている<sup>14)</sup>。さらに, MMP-3 は炎症性サイトカインにより誘導され, 滑膜表層細胞のほかマクロファージからも産生が認められること, 幅広い基質特異性を持ち, 他の MMP の活性化能を有することなどを考え合わせると, RA の軟骨破壊における MMP-3 の役割は極めて大きいと推察される。しかしながら, MMP-3 の遺伝子欠損マウスを用いたコラーゲン誘導性関節炎の検討では, 軟骨破壊の進行に差が無かったと報告されており<sup>15)</sup>。関節炎による軟骨破壊は単一酵素のみで説明し得るものではなく, 各 MMP は互いに機能を補完していることが示唆されている。

### ECM 分解以外の MMP の機能

MMP の主たる機能は ECM の分解であるが, 近

年, MMP にはそれ以外の生物学的機能を有することが明らかにされている。

まず第一は, 種々のタンパクの貯蔵庫としての ECM を破壊することにより, 結合している成長因子等を放出させる機能である。テコリンには transforming growth factor  $\beta$  (TGF  $\beta$ )<sup>3)</sup> が, パールカンには塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) が結合しており, MMP はこれらの放出を促進すると報告されている<sup>16)17)</sup>。さらに, フィブロネクチンのように分解産物自体が生物学的活性を有している ECM も知られている。第二の機能は, 細胞周囲環境としての ECM を破壊することにより, 細胞-ECM 間や細胞間の相互作用に変化をきたし, 細胞活性が変化するということである。骨芽細胞を介した破骨細胞活性化の初期段階では, コラゲナーゼが重要な役割を担っていることが示唆されている。第 3 の機能として, MMP は ECM 以外の基質特異性を有し, 細胞表面タンパクやサイ

ADAMTS: a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motif, bFGF: 塩基性線維芽細胞増殖因子, CRP: C 反応タンパク, IL: インターロイキン, RANKL: receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand, TGF  $\beta$ : transforming growth factor  $\beta$

トカイン, レセプターなどを分解して生物学的活性を調節している。MMP-2, 3, 9 はインターロイキン (IL)-1  $\beta$  のプロセッシングに関与し<sup>18)</sup>, MMP-7 は receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand (RANKL) の可溶化を介して破骨細胞を活性化し得ることが報告されている<sup>19)</sup>。

以上のように, MMP は, ECM 分解以外の機能を介しても, 関節炎およびそれに引き続く軟骨破壊に関与し得ると考えられており, さらなる解明が必要である。

### 関節マーカーとしての MMP の展望

筆者ら<sup>2)</sup> は, RA の軟骨破壊で重要な役割を担っていると考えられている MMP-3 が, RA の関節病態の指標になり得ると考え, 関節液, および血清濃度の検討を行ってきた。膝関節炎を主症状とする RA 患者の膝関節液中と血清中 MMP-3 濃度を検討した結果, 両者は有意な正の相関を示し, さらに血清中 MMP-3 濃度は Lansbury 関節点数や赤血球沈降速度 (赤沈), C 反応タンパク (CRP) 値など全身の炎症マーカーとも正の相関を認めた。さらに, MMP-3 の関節液濃度は血清濃度の数百倍の高濃度であり, これらの結果は, 血清中で検出される MMP-3 の多くが関節内の MMP-3 に由来し, 関節の炎症を反映していることを示唆している。

今日, 血清中の MMP-3 濃度は RA の検査項目の一つとして認可され, 関節破壊の予後を予測できる可能性も示唆されている。しかしながら, 関節炎の病態はさまざまであり, 単一分子で十分に説明することは難しい。加えて, RA 患者の関節病態は, 同一患者であっても部位により異なるため, 個々の関節病態を定量的に評価することが RA の診療上重要な課題と考えられる。MMP は, 産生細胞や発現のメカニズムの異なる酵素群であり, さまざまな関節病態に呼応したプロファイルを呈する可能性が高い。血清中 MMP-3 のみならず,

新たな関節病態の指標として, 今後益々の研究が期待される。

### おわりに

近年, 軟骨アグリカンを分解する新たな酵素として, ADAMTS (a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motif) 遺伝子ファミリーに属する種々の酵素が同定された。MMP と同じメタロプロテアーゼドメインを有する酵素群であり, ADAMTS-4, -5 がそれぞれアグリカナーゼ 1, 2 と呼称されている<sup>10)</sup>。ADAMTS-5 の遺伝子欠損マウスでは, 実験的 OA における軟骨破壊が抑制されたと報告されており<sup>20)</sup>, OA の軟骨破壊における役割は MMP に比較して, より大きいと考えられている。一方, RA における ADAMTS 分子の関与については, 滑膜での発現は知られているが, 未だその詳細は明らかにされていない。MMP のさらなる機能解析と RA における MMP と ADAMTS の役割の解明は今後の重要な課題であり, それらに基づいた新たな検査法, 治療法の開発が期待される。

### 文 献

- 1) Yoshihara Y, Nakamura H, Obata K, et al: Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis or osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 59 : 455-461, 2000.
- 2) Yoshihara Y, Obata K, Fujimoto N, et al: Increased levels of stromelysin-1 and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 in sera from patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 38 : 969-975, 1995.
- 3) Visse R, Nagase H: Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases. Structure, function and biochemistry. *Circ Res* 92 : 827-839, 2003.
- 4) 岡田保典, 橋本学爾: マトリックスメタロプロテ



- アーゼによる細胞外マトリックス代謝と関節破壊. 生化学 **73** : 1309-1321, 2001.
- 5) Kashiwagi M, Tortorella M, Nagase H, et al : TIMP-3 is a potent inhibitor of aggrecanase 1 (ADAM-TS4) and aggrecanase 2 (ADAM-TS5). *J Biol Chem* **276** : 12501-12504, 2001.
- 6) Neuhold LA, Killar L, Zhao W, et al : Postnatal expression in hyaline cartilage of constitutively active human collagenase-3 (MMP-13) induces osteoarthritis in mice. *J Clin Invest* **107** : 3-44, 2001.
- 7) Kennedy AM, Inada M, Krane SM, et al : MMP13 mutation causes spondyloepiphyseal dysplasia, Missouri type (SEMD). *J Clin Invest* **115** : 2832-2842, 2005.
- 8) Wernicke D, Seyfert C, Gromnica-Ihle E, et al : The expression of collagenase3 (MMP-13) mRNA in the synovial tissue is associated with histopathologic type II synovitis in rheumatoid arthritis. *Autoimmunity* **39** : 307-313, 2006.
- 9) Itoh T, Matsuda H, Tanioka M, et al : The role of matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 in antibody-induced arthritis. *J Immunol* **169** : 2643-2647, 2002.
- 10) Tortorella MD, Burn TC, Prratta MA, et al : Purification and cloning of aggrecanase-1 : a member of the ADAMTS family of proteins. *Science* **284** : 1664-1666, 1999.
- 11) Barksby HE, Milner JM, Patterson AM, et al : Matrix metalloproteinase 10 promotion of collagenolysis via procollagenase activation. *Arthritis Rheum* **54** : 3244-3253, 2006.
- 12) Momohara S, Okamoto H, Komiya K, et al : Matrix metalloproteinase 28/epilysin expression in cartilage from patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis : comment on the article by Kevorkian, et al. *Arthritis Rheum* **50** : 4074-4075, 2004.
- 13) Chen YE : MMP-12, an old enzyme plays a new role in the pathogenesis of rheumatoid arthritis ? *Am J Pathol* **165** : 1069-1070, 2004.
- 14) Schurigt U, Stopfel N, Huckel M, et al : Local expression of matrix metalloproteinases, cathepsins, and their inhibitors during the development of murine antigen-induced arthritis. *Arthritis Res Ther* **7** : R174-R188, 2005.
- 15) Mudgett JS, Hutchinson NI, Chartrain NA, et al : Susceptibility of stromelysin 1 - deficient mice to collagen induced arthritis and cartilage destruction. *Arthritis Rheum* **41** : 110-121, 1998.
- 16) Imai K, Hiramatsu A, Fukushima D, et al : Degradation of decorin by matrix metalloproteinases : identification of the cleavage sites, kinetic analyses and transforming growth factor-beta 1 release. *Biochem J* **322** : 809-814, 1997.
- 17) Whitelock JM, Murdoch AD, Iozzo RV, et al : The degradation of human endothelial cell-derived perlecan and release of bound basic fibroblast growth factor by stromelysin, collagenase, plasmin, and heparanases. *J Biol Chem* **271** : 10079-10086, 1996.
- 18) Schonbeck U, Mach F, Libby P, et al : Generation of biologically active IL-1 beta by matrix metalloproteinases : a novel caspase-independent pathway of IL-1 beta processing. *J Immunol* **161** : 3340-3346, 1998.
- 19) Lynch CC, Hirotsuka A, Acuff HB, et al : MMP-7 promotes prostate cancer-induced osteolysis via the solubilization of RANKL. *Cancer Res* **7** : 485-496, 2005.
- 20) Glasson SS, Askew R, Sheppard B, et al : Deletion of active ADAMTS5 prevents cartilage degradation in a murine model of osteoarthritis. *Nature* **434** : 644-648, 2005.

## アグリカンフラグメントによる 関節軟骨疾患の評価

山田治基\*<sup>1</sup> 金治有彦\*<sup>1</sup> 伊達秀樹\*<sup>1</sup> 加藤慎一\*<sup>1</sup>  
市瀬彦聡\*<sup>1</sup> 吉原愛雄\*<sup>2</sup> 森田充浩\*<sup>2</sup>

アグリカンは衝撃吸収という関節軟骨の機能を支える最も重要なマトリックス成分であり、その喪失は関節機能の低下に直結するのでマーカーとしてのポテンシャルは高い。最小構成要素であるグリコサミノグリカンの形で測定する手法は測定漏れが少ない。コア蛋白部分を ELISA で測定する手法は簡便であるが特異性が低い。ケラタン硫酸側鎖とヒアルロン酸結合能の両者を有する分子は軟骨に由来した特異性が高い。ADAMTS や MMP の作用によって生じた新しい断端を認識する測定法は、特定のプロテアーゼによる低分子化の結果を反映している。アグリカンフラグメントとして測定される分子は軟骨以外の組織に由来するものも多いこと、その量は合成と分解の両者の影響を受ける代謝回転の指標であることを認識するべきである。

### はじめに

プロテオグリカンは、生体内に普遍的に存在する複合糖質に属する基本的な細胞外マトリックスである。関節軟骨に存在するプロテオグリカンはアグリカンとよばれ、ヒアルロン酸 (HA) に多数結合し、分子量数百万の巨大凝集体を形成する<sup>1)</sup>。アグリカンはその保水性から

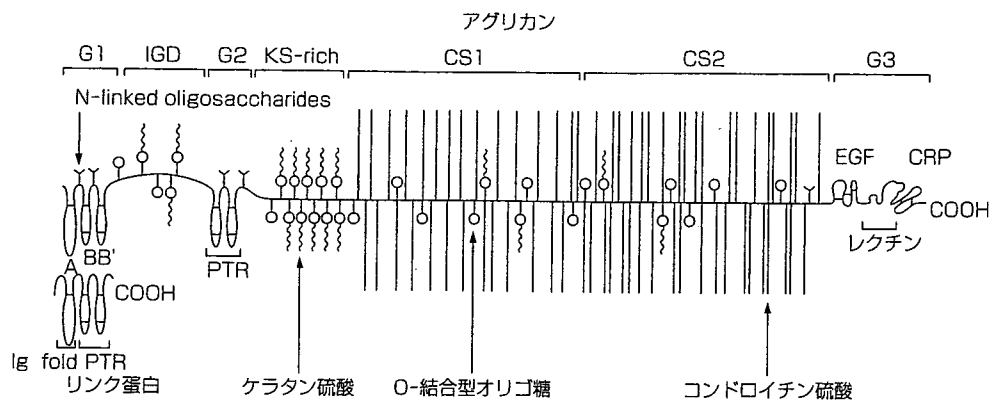
粘弾性、衝撃吸収などの関節機能の維持に重要な役割を果たしている。その喪失は関節機能の低下に直結する。関節リウマチ (rheumatoid arthritis : RA)、変形性関節症 (osteoarthritis : OA) などの関節疾患では、II 型コラーゲンの分解よりもアグリカンの分解、低分子化が先に起こるとされており、アグリカンの分解産物は関節疾患の如何を問わず、疾患病態把握のための早期指標となりうる。関節液、血液などの体液中に存在するアグリカン分子やアグリカンから由来した各種のフラグメントは、軟骨や滑膜などの関節構成体から遊離してきた分子である。軟骨の物理的特性を維持しているアグリカンが分解、低分子化されたフラグメントは、軟骨マトリックスの異化傾向の結果であり、軟骨機能や病態を類推するうえで重要であるとともに関節機能、病態を反映するマーカーとしてのポテンシャルは高い<sup>2)3)</sup>。

#### Key Words

アグリカン  
グリコサミノグリカン  
関節液  
軟骨  
マーカー

\*<sup>1</sup> YAMADA Harumoto, KANAJI Arihiko, DATE Hideki, KATO Shinichi, ICHINOSE Hirofusa/藤田保健衛生大学医学部整形外科

\*<sup>2</sup> YOSHIHARA Yasuo, MORITA Mitsuhiro/防衛医科大学校整形外科



図① アグリカンの構造

アグリカンのコア蛋白はN末端にG1, G2, C末端にG3の3つの球状ドメインを有する。アグリカンはG1ドメインを通じてHAに結合し、リンク蛋白がこれを補強している。アグリカンを構成する側鎖にはKSやCSがある。

(Hardingham TE, 2000<sup>1)</sup>より引用)

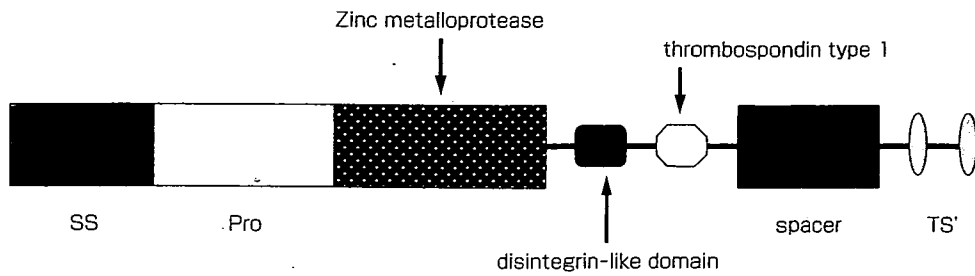
## 1. 関節軟骨に存在するアグリカンの構造と役割

マーカーとしてのアグリカンフラグメントの役割を理解するには、アグリカンの構造を知ることが必要である。関節軟骨のプロテオグリカンは約250 kDa コア蛋白に多数のケラタン硫酸 (KS), コンドロイチン硫酸 (CS) などのグリコサミノグリカン (GAG) が結合し、大きいものでは2,000 kDa 以上の分子量をもつアグリカンとよばれる巨大分子となる(図①)。アグリカンは関節軟骨に特異的に存在するものではなく、関節腔内では靭帯、滑膜などにも存在している。コア蛋白はN末端にG1, G2, C末端にG3の3つの球状ドメインを有する。アグリカンはG1ドメインを介してHAに結合し、リンク蛋白がこの結合を補強している。G2とG3間にはGAG結合部が存在する。側鎖であるGAGは、グルコサミンまたはガラクトサミンの糖単位がくり返してできた長鎖構造の多糖である。GAGは硫酸基とカルボキシル基をもち、強く負に帯電しているので多量の水分を保持する性質がある。ほとんどの関節疾患では、アグリカンの破壊がII型コラーゲンの変性に先行するとされている。アグリカンを喪失した軟骨組織ではII型コラーゲンが露出し、他のプロテアーゼなどの作用を受けやすい状態に置かれる。GAGにはHA, CS, デルマトン酸, ヘパラン硫

酸, KS などがあるが、HA 以外はコア蛋白に側鎖として結合することによってアグリカンを構成する。CS はアセチルガラクトースアミンとグルクロン酸のくり返し配列により構成される代表的なGAGであり、軟骨には唯一の細胞種である軟骨細胞から産生されたコンドロイチン6硫酸 (C6S) とコンドロイチン4硫酸 (C4S) の二種類が存在する。健常軟骨にはC6Sが多く、OA軟骨ではC4Sの比率が増加する。ただし、関節液中のC6Sは主として軟骨に由来するが、C4Sは軟骨のほかに滑膜および血清に由来するものも多い。KSはアセチルガラクトースアミンとガラクトースのくり返し配列により構成されるGAGである。KSは生体中では関節軟骨以外には角膜に存在するのみであり、関節軟骨特異性が高いGAGである。

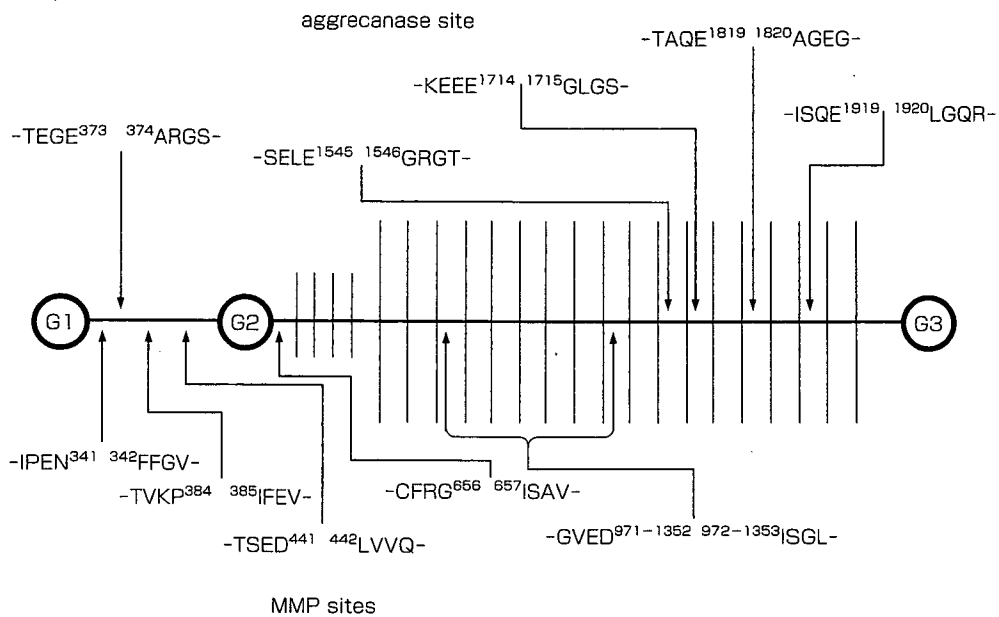
## 2. アグリカンのプロテアーゼによる分解、遊離機構

アグリカンは各種の機序によって分解、低分子化されるが、代表的な分解機構はプロテアーゼによるものである。コア蛋白はプロテアーゼによる分解を受けやすく、中性領域で作用するカテプシンG, プラスミンなどのセリン系プロテアーゼ, マトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) などの金属系プロテアーゼ, カルパインなどのシステインプロテアーゼを含めて、複数のプロテアーゼ



図② ADAMTS の構造

ADAMTS は N 末端の Zinc metalloprotease ドメイン, disintegrin-like ドメイン, トロンボスポンジン 1, 2 に共通な構造を含む thrombospondin type 1 motif を有する基本構造をとる。



図③ コア蛋白におけるプロテアーゼによる切断部位

コア蛋白には MMP や ADAMTS などのプロテアーゼで特異的に切断されやすい部位が複数存在する。上段は aggrecanase によって切断される部位, 下段は MMP によって切断される部位である。

(Struglics A *et al*, 2006<sup>22)</sup>より改変引用)

が *in vitro* でコア蛋白を分解する作用をもつ。ただし、これらのプロテアーゼの作用は非特異的なものも多い。以前は、関節軟骨を含めてアグリカンの生体内における分解、低分子化は MMP-3 をはじめとする複数の MMP によるものと考えられていたが、最近では a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs (ADAMTS, いわゆる aggrecanase) と呼称される一群の金属系プロテアーゼが、OA や RA などの関節疾患におけるアグリカン分解に大きな役割を果たしていることが明らかとなっている<sup>4)</sup>。ADAMTS は N 末端の Zinc

metalloprotease ドメイン, disintegrin-like ドメイン, トロンボスポンジン 1, 2 に共通な構造を含む thrombospondin type 1 motif を有する (図②)。アグリカンのコア蛋白には MMP や ADAMTS で切断される部位が複数存在するが、最近の研究では ADAMTS による切断部位は 5 ヶ所存在することが明らかになっている<sup>5)</sup>(図③)。当初, aggrecanase とよばれた ADAMTS の存在は, OA 関節軟骨や関節液中に存在するアグリカン切断端が MMP による切断端と異なっていることから, その存在が予想され, 検索された。現時点では ADAMTS として