

11. 小嶋俊久、金山康秀、平野裕司、石川尚人、小嶋雅代、石黒直樹. 手術治療を行った関節リウマチ患者における生活の質、抑うつ度の検討. 第81回日本整形外科学会学術総会
2008. 5. 22～5. 25 (札幌)
 12. 松山幸弘、酒井義人、片山良仁、今釜史郎、伊藤全哉、若尾典充、石黒直樹、佐藤公治、加藤文彦、湯川泰紹、神谷光広、見松健太郎 脊髄髄内腫瘍はいっつ手術をおこなうべきか第37回日本脊椎脊髄病学会 2008. 4. 24～4. 26 (東京)
 13. 石黒直樹 生物学的製剤と整形外科治療 第40回中国・四国整形外科学会
2007. 11. 24～11. 25 (徳島)
 14. 松橋智弥、岩崎倫政、他. ヒト関節軟骨の加齢・変形性関節症に伴うN型糖鎖構造解析. 第24回日本整形外科学会基礎学術集会
 15. 石原武、岩崎倫政、他. マウス軟骨前駆細胞株ATDC5を用いた軟骨分化におけるグライコプロテオミクス解析. 第9回日本再生医療学会総会
 16. 福井尚志. 変形性関節症の病態 -最近の知見と滑膜病変に関する我々の検討結果- 第27回日本骨代謝学会 大阪市.
 17. 福井尚志、池田泰子、田中信帆、ほか. ヒト変形性関節症罹患軟骨におけるanabolic factorの発現の検討 -変性部における軟骨基質発現低下の機序解明の試み- 第24回日本整形外科学会基礎学術集会 2009. 11. 5-6 横浜.
 18. 福井尚志、池田泰子、田中信帆、ほか. 変形性関節症における関節液中の軟骨変性因子の探索 第24回日本整形外科学会基礎学術集会 横浜.
 19. 福井尚志、山根昌治、田中信帆、ほか. 内側型膝OAの進行過程 -保存的治療例におけるレントゲン、愁訴、臨床所見の経時的変化- 第1回日本関節鏡・膝・スポーツ整形外科学会
2009. 6. 25-27、札幌
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得
培養関節軟骨細胞の表現型維持に関する新規の方法 (福井尚志 特許出願中)
変形性関節症の新規バイオマーカー (福井尚志 特許出願中)
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他 なし

II. 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
平成 21 年度分担研究報告書

一般住民における血清ヒアルロン酸値の年齢分布と変形性膝関節症との関連

分担研究者

馬淵昭彦 東京大学大学院 医学系研究科国際保健学専攻 人類遺伝学分野 准教授

研究協力者

吉村典子	東京大学大学院	22 世紀医療センター	関節疾患総合研究講座	特任准教授
阿久根徹	東京大学大学院	22 世紀医療センター	臨床運動器医学講座	特任准教授
岡 敬之	東京大学大学院	22 世紀医療センター	関節疾患総合研究講座	特任助教
村木重之	東京大学大学院	22 世紀医療センター	臨床運動器医学講座	特任助教

研究要旨

変形性膝関節症(膝 OA) の早期診断早期予後を明らかにするために、漁村住民 漁村在住男女 826 人(男性 277 人、女性 549 人、平均年齢 61.4 歳)を対象として、膝 X 線撮影および血清ヒアルロン酸(HA)濃度測定を行った。膝 OA は X 線読影においていずれかの膝が Kellgren-Lawrence (KL) 分類のグレード 2 以上のものとした。血清 HA は ELISA 法で測定した。その結果、対象者の血清 HA 平均値は 82.4ng/mL であり、男女差は認められず、年齢は高齢になるにつれて高値をとっていた。次に血清 HA 値を膝 KL 分類ごとに比較したところ、KL 分類があがるにつれて血清 HA 値も高値となることがわかった。膝 OA の有無を目的変数とし、血清 HA 値を説明変数とし、性、年齢、体格指数 (body mass index; Kg/m²) を調整したロジスティック回帰分析では、血清 HA 値は膝 OA の有無と有意な関連を示した (HA の 1 標準偏差の上昇に対するオッズ比 1.32、95%信頼区間 1.06-1.65、p<0.05)。

A. 研究目的

膝痛や歩行障害をきたし、高齢者の生活の質 (quality of life: QOL) を著しく阻害する変形性膝関節症 (Knee osteoarthritis: 膝 OA) は、高齢化が急速に進行するわが国においては、患者数が今後も増加し続けることは明らかであり、その早期発見は喫緊の課題である。しかしながら膝 OA の早期発見に有用なマーカーについては、いくつかの候補が挙げられるもののまだ十分とは言えない。

我々は、わが国の OA の早期発見のためのマーカーとして血清ヒアルロン酸 (HA) をとりあげ、一般住民を対象とした population-based study において、血清 HA と膝 OA との関連を明らかにした。

B. 研究方法

我々は、和歌山県の一漁村住民を対象として、問診票調査、運動機能調査、および膝 X 線撮影を含む大規模な骨関節疾患予防検診をおこなった (ベースライン調査)。

膝 OA の診断は、両膝立位正面 X 線像上の Kellgren-Lawrence (KL) スケールを用いて整形外科医が分類し、重症側の KL グレードが 2 以上を膝 OA ありとし、一般住民における X 線上の変形性膝関節症の有病率を推定した。

血清 HA を測定するために、同意を得られた対象者の血液を採取した。全対象者の血液は午前 9 時～午後 3 時までに採取し、採取後 12 時間以内に血清分離、-80℃の冷凍

庫で保管した。
血清 HA 値は ELISA 法を用い、サンプルを一括で測定した。

(倫理面への配慮)

本研究は、「骨軟骨変性疾患の危険因子に関する研究」として平成 17 年 11 月 28 日東京大学医学部研究倫理審査委員会にて承認されている。また、本研究課題は、各種法律・政令・各省通達特に、疫学研究に関する倫理指針（平成 16 年文部科学省・厚生労働省告示第 1 号、平成 17 年一部改定）、

臨床研究に関する倫理指針（平成 16 年厚生労働省告示第 459 号）および、東京大学医学部研究倫理審査委員会が定めた倫理規定を遵守して遂行した。研究遂行にあたり倫理面での問題はなかった。

C. 研究結果

漁村において総数 826 人（男性 277 人、女性 549 人）が検診に参加し、膝 X 線撮影および血清 HA 値を測定した。
参加者の身体特性を表に示す(表)。

表. 検診参加者の身体特性

	男性	女性
年齢 [歳]	62.6 (13.2)	60.8 (12.5)
身長 [cm]	165.8 (6.8)	153.2 (6.2)
体重 [Kg]	64.8 (11.0)	53.5 (8.8)
BMI [Kg/m ²]	23.5 (3.4)	22.8 (3.6)
喫煙率[%]	31.1	2.9
飲酒率[%]	63.2	24.2

BMI: body mass index
平均値 (標準偏差)

次にこの集団において血中 HA 濃度の平均値をみると、82.4 (標準偏差 77.2)ng/mL となった。これを性、年齢別分布を示す (図 1)。血中 HA 濃度は、男女差は認められないが、年齢とともに高くなる傾向にあった。

図 2 に KL グレード別の血中 HA 濃度の分布を示す。ここから KL グレードが上がるにつれて血中 HA 値が高いことがわかった。

この集団の膝 X 線で KL2 以上となる膝 OA の割合は男性で 23.8%、女性で 37.8%であり、女性に有意に高かった (p<0.001)。ここで膝 OA の有無を目的変数とし、血清 HA 値を説明変数とし、性、年齢、body mass index (Kg/m²) を調整したロジスティック回帰分析をおこなうと、血清 HA は膝 OA の有無と有意な関連を示した (HA の 1 標準偏差の上昇に対してオッズ比 1.32、95%信頼区間 1.06-1.65、p<0.05)。

D. 考察

膝 OA は一般診療においてありふれた病態であるにもかかわらず、その早期発見や

進行予測に有効なマーカーについてはまだ決め手にかけていると言わざるを得ない。今回は一般住民 800 人以上の中老年男女が参加する住民コホートにおいて、膝 OA と血中 HA 値との関連を解析した。

その結果、血清 HA 値は KL グレード値と有意に相関しており、年齢や体格を調整しても膝 OA と有意に関連していることがわかった。今回はベースライン調査の結果であるので、膝 OA の有病との関連しか明らかではないが、本対象者には今後追跡調査を予定しており、その結果から膝 OA の発生や増悪と HA との関連が明らかになることが期待される。

E. 結論

漁村住民からなる住民コホートのベースライン調査結果から、膝 OA と血清 HA 濃度との関連を明らかにした。

F. 健康危険情報
特になし

図 1. 性・年代別血清ヒアルロン酸濃度

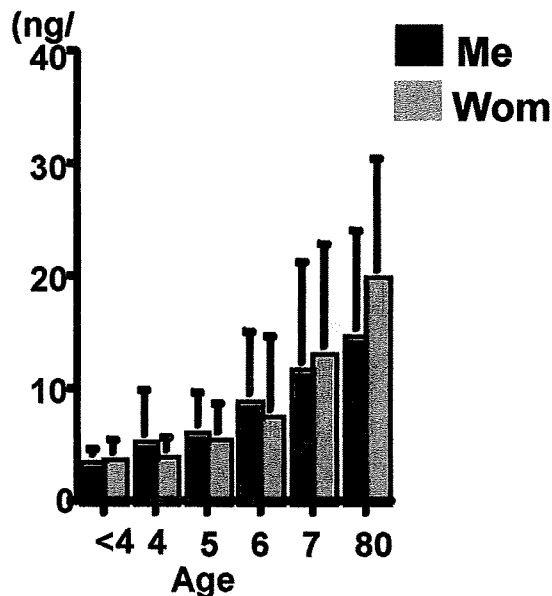
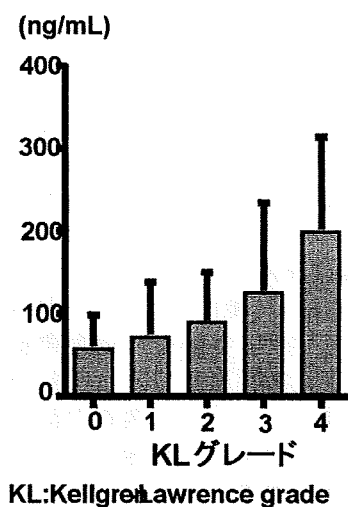


図 2. KL グレード別血清ヒアルロン酸値



KL:Kellgren-Lawrence grade

G. 研究発表

I. 論文発表

a) 雑誌 (原著)

1. Yoshimura N, Muraki S, Oka H, Mabuchi A, Kinoshita H, Yoshida M, Kawaguchi H, Nakamura K, Akune T, Epidemiology of lumbar osteoporosis and osteoarthritis and their causal relationship - Is osteoarthritis a predictor for osteoporosis, or vice-versa?: The Miyama Study. Osteoporos Int 20、 2009、 99-1008
2. Muraki S, Akune T, Oka H, Mabuchi A, Akune T, En-yo Y, Yoshida M, Saika A, Nakamura K, Kawaguchi H, Yoshimura N, Association of occupational activity with radiographic knee osteoarthritis and lumbar spondylosis in the elderly of population-based cohorts: the ROAD study. Arthritis Rheum (Arthritis Care & Research), 61 779-786 ,2009
3. Muraki S, Oka H, Mabuchi A, Akune T, En-yo Y, Yoshida M, Saika A, Suzuki T, Yoshida H, Ishibashi H, Yamamoto S, Nakamura K, Kawaguchi H, Yoshimura N, Prevalence of radiographic lumbar spondylosis and its association with low back pain in the elderly of population-based cohorts: the ROAD study. Ann Rheum Dis 68 1401-1406. 2009
4. Yoshimura N, Muraki S, Oka H, Mabuchi A, En-yo Y, Yoshida M, Saika A, Suzuki T, Yoshida H, Kawaguchi H, Nakamura K, Akune T: Prevalence of knee osteoarthritis, lumbar spondylosis and osteoporosis in Japanese men and women: the research on osteoarthritis/osteoporosis against disability study. J Bone Miner Metab 27 620-628. 2009

5. Oka H, Akune T, Muraki S, Mabuchi A, En-yo Y, Yoshida M, Saika A, Sasaki S, Nakamura K, Kawaguchi H, Yoshimura N: Low dietary vitamin K intake is associated with radiographic knee osteoarthritis in the Japanese elderly: Dietary survey in a population-based cohort of the ROAD study. J Orthopaedic Science 14, 687-692, 2009
6. Muraki S, Oka H, Mabuchi A, Akune T, En-yo Y, Yoshida M, Saika A, Suzuki T, Yoshida H, Ishibashi H, Yamamoto S, Nakamura K, Kawaguchi H, Yoshimura N: Prevalence of radiographic knee osteoarthritis and its association with knee pain in the elderly of Japanese population-based cohorts: the ROAD (research on osteoarthritis against disability) study. Osteoarthritis Cartilage 17, 1137-1143, 2009
7. Muraki S, Akune T, Oka H, Mabuchi A, En-yo Y, Yoshida M, Saika A, Suzuki T, Yoshida H, Ishibashi H, Tokimura F, Yamamoto S, Nakamura K, Kawaguchi H, Yoshimura N: Health-related quality of life with vertebral fracture, lumbar spondylosis and knee osteoarthritis in Japanese men: The ROAD Study. Archives Osteoporos, in press

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
分担研究報告書

膝痛の診断・治療に関する調査研究
関節マーカーを用いた早期診断と予後予測の確立に関する研究に関する研究

研究分担者 石黒直樹 名古屋大学大学院医学系研究科 整形外科 教授

研究要旨

中高齢者の QOL にとって、運動機能の維持また、生活習慣病の予防は重要である。生活習慣病に対する効果を得ている運動習慣を持つグループと持たないグループにおいて、膝関節機能およびコンピューターによるレントゲン計測と関節破壊マーカー（II 型コラーゲン分解産物：C2C）を用いた軟骨評価から運動の軟骨に与える影響を比較し、膝関節に対する適切な運動量について検討する。

A. 研究目的

糖、脂質代謝異常、いわゆる生活習慣病の予防、改善にとって、「運動」は重要とされている。一方、中高年者において変形性膝関節症の有病率は増加する。したがって、生活習慣病の予防、改善と運動器機能の維持を両立することが非常に重要である。今回、生活習慣病に対しての予防的運動習慣をもつグループと持たないグループとで膝関節機能および画像評価、QOL 評価、関節マーカー（軟骨の基質分解産物）の測定を経時的に行い、関節から見た適正な運動習慣を検討すること、関節マーカーの有用性を評価することを目的とする。

B. 研究方法

岐阜県中津川市での2003-5年におけるヘルスアップ事業に参加し、その後も運動教室への参加を継続している33名、ヘルスアップ事業で教室への参加をせず、現在も参加していない20名を調査の対象とした。調査項目は」以下の項目である。

- 1) 2003-5年におけるBMI, 脂質代謝マーカー（Total HDL LDL cholestrole, 中性脂肪）糖質代謝マーカー（HbA1c）の推移
- 2) 現在のBMI, Total HDL LDL cholestrole, 中性脂肪、HbA1cの測定
- 3) 膝立位レントゲン撮影（コンピュータ画像診断ソフトKOACAD によるデジタルデータの解析：関節裂隙の測定など）
- 4) 質問紙を用いてQOL(SF-8), 膝関節機能（WOMAC）評価、および運動習慣、食習慣の把握

2-4の項目について1年後に再度調査を行い、経時的変化を観察する。

（倫理面への配慮）

実施施設において研究の倫理性について審査され

た。運動療法介入は継続的にすでにされているグループについての観察研究であり、個人情報についても厳重に管理されている。

C. 研究結果

今年度は運動教室参加を継続しているグループ33名のベースライン調査を行った。表1に示すようにヘルスアップ事業による2年間の介入時に明らかに糖、脂質代謝マーカーの改善、BMI の改善が得られており、終了から4年たった現在もその状況がほぼ維持されていることが確認された。

表2に示すように KOACAD の計測からも膝関節も強度の変形もなく、WOMAC から膝関節機能も良好か軽度障害程度であることがわかった。運動習慣は週1回の運動教室のみ11名、1時間週2回程度10名、1時間週3回以上11名であった。

ベースラインにおいて、尿中関節マーカーC2C（尿中クレアチニンにより補正）は、BMI と生の相関を示した（ $r=0.392$, $p=0.02$ ）他の WOMAC 点数、KOACAD 計測値との相関は見られなかった。

表1:参加者の背景

variables	2003			2005			2009		
	mean	(min - max)		mean	(min - max)		mean	(min - max)	
gender	male/female						6/27		
Age	year						63.9 (35 - 82)		
BMI	kg/m ²	25.5	(18 - 34.6)	23.8	(18.6 - 34)		24	(19 - 32.8)	
脂質									
T-Chol	mg/dl	215	(145 - 288)	204	(110 - 296)		212	(146 - 265)	
HDL-Chol	mg/dl	60.4	(35 - 100)	66	(45 - 103)		68	(45 - 95)	
LDL-Chol	mg/dl	130	(71 - 194)	123	(82 - 181)		120	(76 - 177)	
中性脂肪	mg/dl	125	(39 - 338)	91.4	(28 - 203)		78	(36 - 142)	
糖質									
HbA1c	%	5.69	(4.9 - 6.8)	5.6	(5 - 6.3)		5.66	(4.9 - 6.6)	
WOMAC									
pain							6	(5 - 13)	
stiffness							3.19	(2 - 6)	
function							19.8	(17 - 37)	

表2:KOAGADの計測値

Variables	右				左			
	Mean	SD	min	max	Mean	SD	min	max
最小幅 (外側)	4.8	1.3	(2.6 - 7.1)		4.2	1.6	(0.4 - 7.1)	
面積 (内側)	108.3	24.1	(67.4 - 162.3)		103.7	21.5	(61.3 - 141.3)	
最小幅 (内側)	3.7	0.9	(1.3 - 5.8)		3.5	0.8	(1.6 - 5.2)	
脛骨骨縁 (内側)	1.7	4.0	(0.0 - 17.9)		3.2	8.0	(0.0 - 38.1)	
FTA	178.1	3.3	(172.9 - 186.1)		177.6	3.2	(169.7 - 183.1)	

D. 考察

6年経過から本研究における運動介入による生活習慣病に対する予防効果は明らかである。このグループにおける軟骨、関節機能評価の経時的増悪傾向がなければ、この運動習慣は適切なものと考えられる。

さらに運動習慣を有しないグループと比較することにより、軟骨、関節機能の増悪に対するリスク因子（体重増加など）についても検討することが可能と考えられる。

E. 結論

来年度1年後同様の調査を行い、レントゲン計測における変化と関節マーカとの関連について検討し、関節マーカの意味を検証するとともに、このグループの運動習慣の関節に対する影響を検証することができる。
また来年度併せて集積される運動習慣のないグループについてのデータと比較することにより、生活習慣病を予防し、関節機能も損なわない、適切な運動量を検討するための情報を提供できる。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

I. 論文発表

- Masayo Kojima, Toshihisa Kojima, Naoki Ishiguro, Takeshi Oguchi, Michinari Oba, Hiroki Tsuchiya, Fumiaki Sugiura, Toshiaki A Furukawa, Sadao Suzuki, Shinkan Tokudome. Psychosocial factors, disease status, and quality of life in patients with rheumatoid arthritis. Journal of Psychosomatic Research. 67(5):425-31, 2009
- Yuji Hirano, Toshihisa Kojima, Yasuhide Kanayama, Hisato Ishikawa, Naoki Ishiguro. A case of lung tuberculosis in a patient with rheumatoid arthritis treated with infliximab after anti-tuberculosis chemoprophylaxis with isoniazid. Modern Rheumatology. 19(3):323-8, 2009
- T Kojima, M Kojima, K Noda, N Ishiguro, AR Poole. Influences of menopause, aging, and gender on the cleavage of type II collagen in cartilage in relationship to bone turnover. Menopause 15:133-137, 2008
- Y Hirano, N Ishiguro, M Sokabe, M Takigawa, K Naruse. Effects of tensile and compressive strains on response of a chondrocytic cell line embedded in type I collagen gel. J Biotechnol 133:245-252, 2008
- J Wasa, Y Nishida, Y Suzuki, S Tsukushi, Y Shido, K Hosono, Y Shimoyama, S Nakamura, N Ishiguro. Differential expression of angiogenic factors in peripheral nerve sheath tumors. Clin Exp Metastasis 25:819-825, 2008
- 石黒直樹. 《特集/関節リウマチの新しい治療方針》II 関節リウマチの最新薬物療法と理学療法 1. 薬物療法の基本原則と効果判定法. 整形外科. 59:870-875, 2008
- 石黒直樹. リウマチ性疾患. 整形外科 59: 740-747, 2008
- 石黒直樹、小嶋俊久、杉浦文昭、土屋廣起、石川尚人. 関節リウマチ治療の新展開. 日本整形外科学会雑誌. 82: 224-229, 2008
- Nobunori Takahashi, Toshihisa Kojima, H Ogawa, Naoki Ishiguro. Correlation between parathyroid hormone, bone alkaline phosphatase and N-telopeptide of type 1 collagen in diabetic and non-diabetic haemodialysis patients. Nephrology .12: 539-545, 2007
- Koshima H, Kondo S, Mishima S, Choi HR, Shimpo H, Sakai T, Ishiguro N: Expression of interleukin-1beta, cyclooxygenase-2, and prostaglandin E2 in a rotator cuff tear in rabbits. J Orthop Res. 25:92-97, 2007
- H Kitoh, T Kitakoji, H Tsuchiya, M Katoh, N Ishiguro. Transplantation of culture expanded bone marrow cells and platelet rich plasma in distraction osteogenesis of the long bones. Bone 40:522-528, 2007
- 学会発表
 - 平野裕司、小嶋俊久、金山康秀、塩浦朋根、林真利、石黒直樹. 呼吸器に問題をもつ関節リウマチ患者に対するタクロリムス投与の効果と安全性 第53回日本リウマチ学会

2009. 4. 23～4. 26 (東京)
2. 石黒直樹、小嶋俊久、Poole Robin. 変形性関節症の病態と治療：治療法の up to date.
第 82 回日本整形外科学会学術総会.
2009. 5. 14～5. 17 (福岡)
 3. Hiroshi Kitoh, Motoaki Kawasumi, Naoki Ishiguro. Distraction osteogenesis of the lower limbs with transplantation of culture expanded bone marrow cells and platelet rich plasma.
54 Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society. 2008. 3. 2～3. 5, San Francisco (USA)
 4. 石黒直樹、小嶋俊久、Robin Poole The relationship between the cleavage of type II collagen by collagenase and cartilage destruction in osteoarthritis
第 52 回日本リウマチ学会
2008. 4. 20～4. 23 (札幌)
 5. 小嶋俊久、金山康秀、平野裕司、石川尚人、小嶋雅代、石黒直樹. 手術治療を行った関節リウマチ患者における生活の質、抑うつ度の検討.
第 81 回日本整形外科学会学術総会
2008. 5. 22～5. 25 (札幌)
 6. 松山幸弘、酒井義人、片山良仁、今釜史郎、伊藤全哉、若尾典充、石黒直樹、佐藤公治、加藤文彦、湯川泰紹、神谷光広、見松健太郎
脊髄髄内腫瘍はいつ手術をおこなうべきか
第 37 回日本脊椎脊髄病学会
2008. 4. 24～4. 26 (東京)
 7. Hiroshi Kitoh, Naoki Ishiguro. Transplantation of culture expanded bone marrow cells and platelet rich plasma during distraction osteogenesis-clinical and experimental study-. 15 Triennial Congress of Asia Pacific Orthopaedic Association. 2007. 9. 9～9. 13, Seoul (Korea)
 8. Masayo Kojima, Toshihisa Kojima, Naoki Ishiguro, Takeshi Oguchi, Michinari Oba, Hiroki Tsuchiya, Fumiaki Sugiura, Shinkan Tokudome.
Psychological factors and disease status in rheumatoid arthritis patients.
19 World Congress on Psychosomatic Medicine.
2007. 8. 26～8. 31, Quebec (Canada)
 9. 石黒直樹
生物学的製剤と整形外科治療
第 40 回中国・四国整形外科学会
2007. 11. 24～11. 25 (徳島)
- H. 知的財産権の出願・登録状況
なし
実用新案登録
なし
その他
なし

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
分担研究報告書

関節液中間葉幹細胞による解析

研究分担者 宗田 大 東京医科歯科大学 大学院 運動器外科学 教授

研究要旨

関節軟骨の変性と、関節液中の間葉幹細胞数との関係について解析した。前十字靭帯損傷膝の軟骨変性スコアと間葉幹細胞数は相関した。また変形性膝関節症でレントゲンによる重症度が増すと、関節液中の間葉幹細胞数が増加した。

A. 研究目的

2004年にMcGonagleらは水腫のある変形性関節症膝の関節液中にコロニー形成細胞が存在し、間葉幹細胞の特性を有することを報告した。さらに2008年に疼痛を有し関節鏡を施行した膝の関節液中に間葉幹細胞が存在することを報告した。私たちは2008年に、前十字靭帯損傷膝の関節液中には正常膝よりも多くのコロニー形成細胞が存在し、滑膜由来の間葉幹細胞の特徴を有することを報告した。

本研究では、前十字靭帯損傷膝、及び変形性膝関節症膝の関節液中の間葉幹細胞を定量し、関節鏡評価による軟骨変性度や、レントゲンによる重症度と相関するかを解析した。さらに、変形性膝関節症の関節液中に存在する間葉幹細胞の遺伝子プロファイルを解析した。

B. 研究方法

(検討1) 前十字靭帯再建術時に関節液を穿刺した。また関節鏡視による軟骨の変性度をスコア化した。

(検討2) 正常膝および変形性膝関節症膝から関節液を穿刺した。またレントゲンの立位正面像で重症度により3群に分けた。

関節液は細胞成分を14日間培養後、コロニー数を測定した。

(検討3) 変形性膝関節症に対して人工膝関節置換術を施行した際に、関節液、滑膜、骨髓液を採取した。それぞれの間葉幹細胞の遺伝子プロファイルを求め、クラスター解析を行なった。

(倫理面への配慮)

前十字靭帯損傷膝からは関節鏡施行直前に関節液を採取した。変形性膝関節症の膝からは、ヒアルロン酸注射施行前、あるいは人工膝関節置換術時に関節液を採取した。本研究を施行するにあたり、本学の倫理委員会に承認を得た。

C. 研究結果

(検討1) 前十字靭帯損傷膝の軟骨変性スコアと間葉幹細胞数は相関した。(n=19、 $r=0.645$ 、 $p<0.002$)。

(検討2) 変形性膝関節症のレントゲンによる重症度が増すに従い、間葉幹細胞数は増加した(n=50、 $p<0.05$)。

(検討3) 変形性膝関節症の関節液中に存在する間葉幹細胞の遺伝子プロファイルは、骨髓液中に存在するものよりも、滑膜由来のものに類似した。

D. 考察

関節液中に存在する間葉幹細胞の数は、関節軟骨の変性に応じて増加することが示された。間葉幹細胞は軟骨分化能を有し、組織障害部位に接着する。今回の結果は関節液中の間葉幹細胞が軟骨変性を自己修復する機構の存在を示唆する。関節液から間葉幹細胞を解析することにより、その自然経過を予測することができ、今後の検討課題である。

E. 結論

関節軟骨の変性に伴い、関節液中の間葉幹細胞は増加した。変形性膝関節症においても、関節液中の間葉幹細胞は滑膜由来のものに類似した。

F. 健康危険情報
特になし。

G. 研究発表

I. 論文発表

1. Ichinose S, Muneta T, Koga H, Segawa Y, Tagami M, Tsuji K, Sekiya I. Morphological differences during in vitro chondrogenesis of bone marrow-, synovium-MSCs, and chondrocytes Laboratory Investigation 2009
2. Tohyama H, Yasuda K, Minami A, Majima T, Iwasaki N, Muneta T, Sekiya I, Yagishita K, Takahashi S, Kurokouchi K, Uchio Y, Iwasa J, Deie M, Adachi N, Sugawara K, Ochi M. Atelocollagen-associated autologous chondrocyte implantation for the repair of chondral defects of the knee: a prospective multicenter clinical trial in Japan. J Orthop Sci. 2009 Sep;14(5):579-88.
3. Sekiya I, Tang T, Hayashi M, Morito T, Ju YJ, Mochizuki T, Muneta T. Periodic knee injections of BMP-7 delay cartilage degeneration induced by excessive running in rats. J Orthop Res. 2009 Aug;2009. 1088-1092
4. Yamazaki J, Muneta T, Ju YJ, Sekiya I. Differences in kinematics of single leg squatting between anterior cruciate ligament-injured patients and healthy controls. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc. 2009
5. Horie M, Sekiya I, Muneta T, Ichinose S, Matsumoto K, Saito H, Murakami T, Kobayashi E. Intra-articular Injected synovial stem cells differentiate into meniscal cells directly and promote meniscal regeneration without mobilization to distant organs in rat massive meniscal defect. Stem Cells. 2009 Apr;27(4):878-87.
6. Koga H, Engebretsen L, Brinchmann JE, Muneta T, Sekiya I. Mesenchymal stem cell-based therapy for cartilage repair: a review. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc. 2009 Mar 31.
7. Horie M, Sekiya I, Nakamura T, Tanaka H, Maekawa K, Muneta T, Kobayashi E. In vivo pharmacokinetics of ketoprofen after patch application in the Mexican hairless pig. Biopharmaceutics & Drug Disposition (in press)
8. Ezura Y, Sekiya I, Koga H, Muneta T, Noda M. Methylation status of CpG-islands in the promoter regions of signature genes during chondrogenesis of human synovium-derived mesenchymal stem cells. Arthritis Rheum. May 2009; 1416-1426
9. Mochizuki T, Sugaya H, Uomizu M, Maeda K, Matsuki K, Sekiya I, Muneta T, Akita K. Humeral insertion of the supraspinatus and infraspinatus. New anatomical findings regarding the footprint of the rotator cuff. Surgical technique. J Bone Joint Surg Am. 2009 Mar 1;91 Suppl 2 Pt 1:1-7.

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
分担研究報告書

関節マーカーを用いた早期診断と予後予測の確立に関する研究

研究分担者 岩崎 倫政 北海道大学病院整形外科講師

研究要旨：ヒト変形性関節症（OA）軟骨組織サンプルを採取し、そのN型糖鎖構造解析を行い、変化しているN型糖鎖を同定した。また、マウスを用いたモデル実験により、ヒト軟骨において同定したN型糖鎖およびその関連酵素がOA発症のメカニズムに深く関与していることを示した。この結果より、N型糖鎖がヒトOAの発症に関与し、早期OAマーカーになる可能性が示唆された。

A. 研究目的

1) ヒトOA軟骨組織サンプルの採取とそのN型糖鎖構造解析、2) 正常およびOA患者群の血清サンプルの採取と血清中のN型糖鎖構造解析、3) マウスOA発症におけるN型糖鎖の機能解析

B. 研究方法

ヒト正常群およびOA群のおよび血清を採取し、そのN型糖鎖構造解析を行い、OA群において変化している糖鎖を同定する。

ヒトで同定されたN型糖鎖に注目し、マウスOAモデルにおいてOA発症に関連した機能解析を行う。

（倫理面への配慮）

学内の倫理委員会の承認のもとに研究を施行した

C. 研究結果

ヒトOA軟骨において変化するN型糖鎖を同定した。また、マウスでのOA発症におけるこの糖鎖の機能も証明した。ヒト血清の解析に関しては解析条件の設定が終了し、実際に血清中のN型糖鎖解析を行える段階に到達した。現在、各群20-30程度の血清サンプルの採取は終了している。

D. 考察

ヒトOAの発症においてN型糖鎖が重要な機能を担っている可能性が示された。血清中においても同様のN型糖鎖変化が生じている可能性があり、これを証明することでN型糖鎖もしくは関連酵素がOAマーカーになりうる可能性がある。また、同定された糖鎖が同時に治療ターゲットになりうる可能性も示唆された。

E. 結論

ヒトOA軟骨中でN型糖鎖構造は変化しており、マウスOAモデルによりこの変化がOA発症のメカニズムに深く関与している可能性が示された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

I. 論文発表

岩崎倫政、他：糖鎖による軟骨細胞機能制御の可能性—軟骨変性に伴うN-結合型糖鎖の変化より—。遺伝子医学MOOK別冊、p55-59, 2009

II. 学会発表

1. ヒト関節軟骨の加齢・変形性関節症に伴うN型糖鎖構造解析. 松橋智弥、岩崎倫政、他. 第24回日本整形外科学会基礎学術集会

2. マウス軟骨前駆細胞株ATDC5を用いた軟骨分化におけるグライコプロテオミクス解析. 石原武、岩崎倫政、他. 第9回日本再生医療学会総会

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究補助金（長寿科学総合研究事業）
分担研究報告書

複数の既知マーカーの組み合わせによる変形性関節症の病態評価
およびバイオマーカーの関節組織における発現の検討

分担研究者 福井 尚志（独）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：変形性関節症（OA）の病態を正確に把握するために surrogate marker の確立が重要である。OA の病態と関連するマーカーの探索は従来から試みられてきたが、現在までに単独で病態とよく相関する因子は見出されていない。本研究の目的は OA の病態との相関が報告されている因子を複数測定し、その値の組み合わせによって OA の病態をより高い精度で反映する指標を確立することである。研究第2年度の本年は膝関節の OA 症例のフォローアップおよび検体の収集を終え、また比較的若年と OA 症例と同等の年齢の二群の対象例を設定して血液および尿の検体を採取した。これらの検体についてバイオマーカーの計測を進めて病態と関連する因子を選択した。

A. 研究目的

変形性関節症（OA）は先進国においてもっとも患者数が多い関節疾患であるが、その病態を客観的に評価する方法は確立されていない。OA の進行抑止法を確立するためにも、OA の予後や重症度を高い精度で示すバイオマーカーを確立することが重要である。

OA の病態（重症度あるいは進行速度）と関連するバイオマーカーについては既に多くの報告があり、病態と相関する因子も今までに複数が見出されている。しかし現在までのところ単独で高い精度で OA の病態を示すことのできるマーカーは確立されていない。本研究の第一の目的は既知の OA のバイオマーカー（以下既知マーカー）を複数測定し、それらの組み合わせによって OA の病態をより正確に評価しうる指数を確立することである。

OA の病態とよく関連するマーカーが見出された場合、その因子の OA 関節の各組織における発現を探ることで OA の病態を解明する糸口が見出されるかもしれない。このことから本研究では指数の確立とともに OA 関節から採取した軟骨、滑膜におけるマーカーの発現についても検討することとし

た。

B. 研究方法

1. 膝関節 OA の症例 50 例を目標に2年間にわたって6ヶ月ごとに血液（血清、血漿）、尿、画像（片脚立位、膝伸展位と45度屈曲位での単純 X-p 前後像）、専用のチャートによる臨床所見、Japanese Knee Osteoarthritis Measure (JKOM; Akai M, et al. *J Rheumatol* 2005) による患者の自覚的な愁訴を記録する。個々の症例における OA の重症度と2年間の進行の速度を単純 X-p で評価し、これと血液、尿中の既知マーカーの変動を関連付けて ROC (Receiver Operating Characteristic) 解析を行うことによって OA の病態と最もよく相関するバイオマーカー2～4個の組み合わせを見出し、これらによる病態の評価指数を確立する。

この対照として比較的若年の健常者 30 名（若年対照群）、およびより高齢の健常者 30 名（高齢対照群）の二群を設定し、それぞれにおいて血液と尿を採取する。

計測を予定する既知マーカーは以下に示す 19 項目（血液 15 項目、尿 4 項目）で、測定は Luminex あるいは市販および自家作製の ELISA キットにより行うこととした。

□血液:MMP-3、MMP-8、MMP-9、TIMP-1、TIMP-2、COMP、ヒアルロン酸、CPII (C-terminal propeptide of type II collagen)、CIIANP (N-terminal propeptide of type IIA collagen)、YKL-40、高感度CRP、アグリカン*、ケラタン硫酸 (KS) *、PGE2、CS846、pyridinoline (PYD)

□尿:CTX-II (C-terminal crosslinking telopeptide of type II collagen)、CII neo-epitope (CIINE)、アグリカン*、ケラタン硫酸*

(*:血液、尿の両方で測定。)

2. 既知マーカーのOA 関節各組織における発現を解析するために、OA 軟骨と滑膜について cDNA マイクロアレイによる遺伝子発現解析を行い、さらにいくつかの遺伝子についてはレーザー・マイクロダイセクションと qPCR による発現解析を行った。

(倫理面の配慮)

研究への参加に際しては患者本人に対して研究の目的、研究参加に伴う利益・不利益、得られた個人情報の保護など必要な情報を十分説明した上で、研究参加へ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、個人情報は別に情報管理者を設定して管理した。

C. 研究結果

1. 現在までに膝 OA 症例 43 例 86 関節について 2 年間のフォローを終えた。これらの症例から得た 6 ヶ月ごとの血液、尿と X-p 像を解析した。また若年対照群 29 例 (平均 53.7 歳) および高齢対照群 30 例 (平均 69.8 歳) から血液、尿を採取してこれについても解析を行った。なお高齢対照については問診、理学所見とレントゲンにより膝関節に異常のないことを確認している。

(1) X-p 上の OA の重症度とマーカーの関連を検討したところ、血清中の COMP、YKL-40、ヒアルロン酸、PYD、尿中の CIINE について若年または高齢対照群と OA 例の間に有意の差が観察された (図 1)。さらに現在まで

に測定を終えた因子について、因子の組み合わせによる高齢対照群と OA 症例の識別を試みたところ、血清の COMP、アグリカン、KS の 3 因子の組み合わせで両群がきわめて高い精度で区別できるという結果を得た (図 2)。

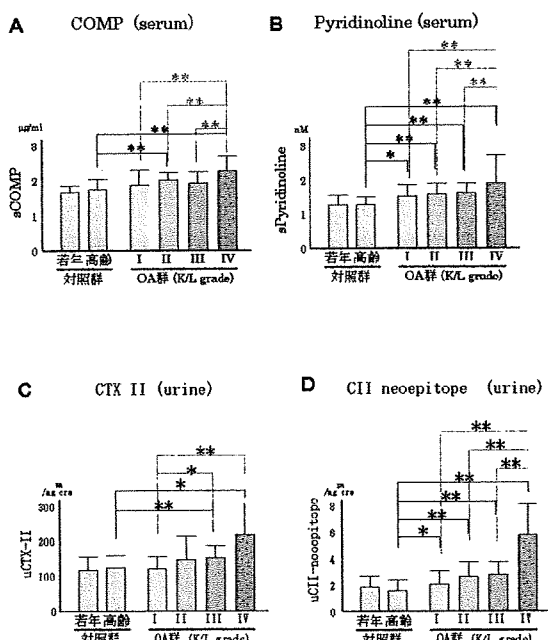


図 1. 血清中 COMP (A)、PYD (B)、尿中 CTX-II (C)、CIINE (D) の対照群と OA の各群における計測値の比較。*, p < 0.05; **, p < 0.01。

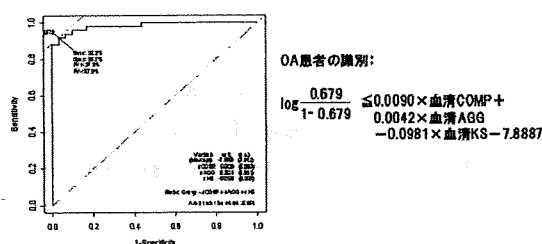


図 2. ROC 解析の結果。血清 COMP、aggrecan、KS の値を組み合わせることで高齢対照群と OA 症例を感度 92.2%、特異度 96.7%で識別することができた。

2. 今回対象とした OA 症例の中で、フォロー期間中に左右の膝のいずれかに裂隙狭小化が生じた症例が 22 症例あった。これら (進行群) とそれ以外の症例 (非進行群) の間で種々のマーカーの計測値を 2 種の統

計モデルで比較したところ、表 1 に示す因子が 2 群間で有意に異なるという結果が得られた。これらの組み合わせで OA の進行症例と非進行例を区別できるかについては次年度に検体の計測が全項目について終了してから検討を行う予定である。またマーカーの OA 関節における発現の検討も、次年度に有用なマーカーが確認された後に行う予定である。

表 1. 関節裂隙の狭小化と関連する因子

統計モデル	見出された因子
混合効果モデル	血清:KS, CPII, COMP, PIIANP, 尿:CTXII, CIINE, KS
周辺モデル	血清:KS, CPII, 高感度CRP 尿:(なし)

両モデルに共通に見出された因子を赤字で示した。

D. 考察

研究第 2 年度の本年は OA 症例と対照群からの検体の収集を終え、収集した検体の解析も全測定のおよそ約 2/3 を終了した。本年度に得られた結果のみでも OA 症例と高齢対照群を高い精度で見出せるマーカーの組み合わせが見出された。次年度は検体の解析をさらに進め、OA の進行例と非進行例の間に有意の差がある因子を特定し、それらの組み合わせによって OA の進行例が識別可能かを明らかにする予定である。また次年度はこれらのマーカーについて OA 軟骨と滑膜における発現を検討し、マーカーの測定値が OA の重症度、あるいは進行速度と関連して変化する機序を明らかにすることも予定する。

E. 結論

既知の複数のバイオマーカーの組み合わせによる OA の病態指数の確立を目指して OA 症例のフォローアップを開始して検体と臨床情報を集積し、検体の解析を進めた。解析中途の段階で OA 症例と同等の年齢の健常対照者を高い確度で区別しうるマーカーの組み合わせが見出された。OA の進行を予想するマーカーの組み合わせについては

次年度の検討課題である。

G. 研究発表

1. 総説

Fukui N, Ikeda Y, Tanaka N. The Use of Laser Capture Microdissection on Adult Human Articular Cartilage for Gene Expression Analysis. In. Laser Microdissection: Methods and Protocols, Second Edition. Graeme I Murray (ed). Springer Verlag (in press).

2. 論文発表

1. Ishida S, Yamane S, Fukui N, et al. (13 名中 10 番目) The interaction of monocytes with rheumatoid synovial cells is a key step in LIGHT-mediated inflammatory bone destruction. *Immunology* 128(1 Suppl):e315-24.
2. Hikita A, Tanaka N, Fukui N, et al. (10 名中ラスト) Involvement of a disintegrin and metalloproteinase 10 and 17 in shedding of tumor necrosis factor- α . *Biochemistry and Cell Biology* 2009;87(4):581-93.
3. Mitomi H, Fukui N, Tanaka N, et al. (7 名中 2 番目) Aberrant p16(INK4a) methylation is a frequent event in colorectal cancers: prognostic value and relation to mRNA expression and immunoreactivity. *Journal of cancer research and clinical oncology*. 2010;136(2):323-31.
4. Fukui S, Ogawa K, Ohtsuka M, Fukui N. Effect of communication skills training on nurses' detection of patients' distress and related factors after cancer diagnosis: a randomized study. *Psychooncology*. 2009;18(11):1156-64.
5. Nakajima M, Takahashi A, Fukui N, et al. (18 名中 10 番目) New sequence variants in HLA class II/III region

associated with susceptibility to knee osteoarthritis identified by genome-wide association study. PLoS One. 2010;5(3):e9723.

6. 福井尚志. I. 身体活動の基礎 身体活動と筋骨格系. 身体活動・運動と生活習慣病 運動生理学と最新の予防・治療 2009;67:42-7.

3. 学会発表

1. 福井尚志. 変形性関節症の病態 -最近の知見と滑膜病変に関する我々の検討結果- 第 27 回 日本骨代謝学会 2009.7.23-25 大阪市.

2. 福井尚志、池田泰子、田中信帆、ほか. ヒト変形性関節症罹患軟骨における anabolic factor の発現の検討 -変性部における軟骨基質発現低下の機序解明の試み- 第 24 回日本整形外科学会基礎学術集会 2009.11.5-6 横浜.

3. 福井尚志、池田泰子、田中信帆、ほか. 変形性関節症における関節液中の軟骨変性因子の探索 第 24 回日本整形外科学会基礎学術集会 2009.11.5-6 横浜.

4. 福井尚志、山根昌治、田中信帆、ほか. 内側型膝 OA の進行過程 -保存的治療例におけるレントゲン、愁訴、臨床所見の経時的変化- 第 1 回日本関節鏡・膝・スポーツ整形外科学会 2009.6.25-27、札幌

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許出願

- ・培養関節軟骨細胞の表現型維持に関する新規の方法（特許出願中）
- ・変形性関節症の新規バイオマーカー（特許出願中）

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
森田充浩 山田治基 伊達秀樹	OAの関節軟骨変性の 評価：バイオマーカ ー	THE BONE	23	45-49	2009
森田充浩 山田治基 伊達秀樹	変形性関節症の生物 学的マーカー	運動器慢性疾患に 対する運動療法		56-61	2009
森田充浩 山田治基	変形性関節症(OA)の 病理, 病態	関節外科-基礎と臨 床-	28	29-33	
森田充浩 山田治基 伊達秀樹 吉村典子	関節マーカーによる 変形性関節症の評価	Clinical Calcium 2009		34-39	
山田治基 森田充浩 伊達秀樹	変形性関節症に対す るサプリメントの位 置付けについて-患 者および整形外科医 に対するアンケート 調査から-	関節の外科	36	113-120	
山田治基 森田充浩 伊達秀樹	血液・尿化学検査免 疫学的検査 -その 数値をどう読むか- 第7版(1) II 生化学 的検査[1] E. 糖質・ 糖代謝関係	日本臨床	67巻増刊 号8別冊	735-737	2009
森田充浩 山田治基	骨・関節疾患アプ ローチのための解剖生理	病気と薬 パーフ ェクトBOOK2010	2010年3月 増刊号	1090-1092	2010
山田治基 森田充浩 伊達秀樹	変形性関節症の診 断、評価における生 化学マーカーの有用 性	老年医学	48	369-371	2010
森田充浩 山田治基	特集 リウマチ性疾 患における骨・軟骨 病変と治療 変形性 関節症における関節 マーカーと臨床応用	リウマチ科	43	in printing	
Yoshimura N, Muraki S, Oka H, Mabuchi A, Kinoshita H, Yoshida M, Kawaguchi H, Nakamura K, Akune T	Epidemiology of lumbar osteoporosis and osteoarthritis and their causal relationship - Is osteoarthritis a predictor for osteoporosis, or vice-versa?: The Miyama Study.	Osteoporos Int	20	999-1008	2009

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Muraki S, Akune T, Oka H, Mabuchi A, Akune T, En-yo Y, Yoshida M, Saika A, Nakamura K, Kawaguchi H, Yoshimura N	Association of Occupational activity With radiographic knee osteoarthritis and lumbar spondylosis in the elderly of population-based cohorts: A large Scale Population Based Study	Arthritis Rheum (Arthritis Care & Research)	Vol. 61	779-786	2009
Muraki S, Oka H, Mabuchi A, Akune T, En-yo Y, Yoshida M, Saika A, Suzuki T, Yoshida H, Ishibashi H, Yamamoto S, Nakamura K, Kawaguchi H, Yoshimura N	Prevalence of radiographic lumbar spondylosis and its association with low back pain in the elderly of population-based cohorts: the ROAD study.	Ann Rheum Dis	68	1401-1406	2009
Yoshimura N, Muraki S, Oka H, Mabuchi A, En-yo Y, Yoshida M, Saika A, Suzuki T, Yoshida H, Kawaguchi H, Nakamura K, Akune T:	Prevalence of knee osteoarthritis, lumbar spondylosis and osteoporosis in Japanese men and women: the research on osteoarthritis/osteoporosis against disability study.	J Bone Miner Metab	27	620-628	2009
Oka H, Akune T, Muraki S, Mabuchi A, En-yo Y, Yoshida M, Saika A, Sasaki S, Nakamura K, Kawaguchi H, Yoshimura N	Low dietary vitamin K intake is associated with radiographic knee osteoarthritis in the Japanese elderly: Dietary survey in a population-based cohort of the ROAD study.	J Orthopaedic Science	14	687-692	2009
Muraki S, Oka H, Mabuchi A, Akune T, En-yo Y, Yoshida M, Saika A, Suzuki T, Yoshida H, Ishibashi H, Yamamoto S, Nakamura K, Kawaguchi H, Yoshimura N	Prevalence of radiographic knee osteoarthritis and its association with knee pain in the elderly of Japanese population-based cohorts: the ROAD (research on osteoarthritis against disability) study.	Osteoarthritis Cartilage	17	1137-1143	2009

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Muraki S, Akune T, Oka H, Mabuchi A, Enyo Y, Yoshida M, Saika A, Suzuki T, Yoshida H, Ishibashi H, Tokimura F, Yamamoto S, Nakamura K, Kawaguchi H, Yoshimura N	Health-related quality of life with vertebral fracture, lumbar spondylosis and knee osteoarthritis in Japanese men: The ROAD Study.	Archives Osteoporos			in press
Kitoh H, Kawasumi M, Kaneko H, Ishiguro N	Differential effects of culture-expanded bone marrow cells on the regeneration of bone between the femoral and the tibial lengthenings.	J Pediatr Orthop	29(6)	643-9	2009
Kitoh H, Kaneko H, Ishiguro N	Radiographic analysis of movements of the acetabulum and the femoral head after Salter innominate osteotomy.	J Pediatr Orthop	29(8)	879-84	2009
Kitoh H, Kawasumi M, Ishiguro N	Predictive factors for unsuccessful treatment of developmental dysplasia of the hip by the Pavlik harness.	J Pediatr Orthop.	29(6)	552-7	2009
石黒直樹	【臨床現場で期待される分子標的治療】 関節リウマチ治療の進歩	現代医学	57	41-45	2009
石黒直樹	【外来で診る関節痛の診断と対応】 関節痛の基礎 関節炎とサイトカイン	関節外科	28	16-21	2009
石黒直樹	【新たな生物学的製剤によるリウマチ性疾患の治療】 デノスマブによるRAの治療	リウマチ科	41	275-280	2009