

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
石黒直樹	【関節リウマチへの新しいチャレンジ 薬物療法の動向と早期リハ】 関節リウマチの早期診断と治療法の進歩	Journal of Clinical Rehabilitation	18	108-116	2009
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	Investigatio			2009
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	Atelocollagen-associated autologous chondrocyte implantation for the repair of chondral defects of the knee: a prospective multicenter clinical trial in Japan.	J Orthop Sci	Sep;14(5)	579-88.	
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	2009
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. 2010	18	56-63	2010

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
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		2009
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)
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	2009
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	1-7.	2009
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	Apr; 27(4)	878-87.	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
岩崎倫政、松橋智弥、瓜田淳、高畑雅彦、三浪明男、西村紳一郎	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 “ますます重要になる細胞周辺環境の最新科学技術”	55-59	2009
Fukui N, Ikeda Y, Tanaka N	The Use of Laser Capture Microdissection on Adult Human Articular Cartilage for Gene Expression Analysis.	Graeme I. Murray	Laser Microdissection: Methods and Protocols 2 nd ed.		(in press)
Ishida S, Yamane S, Nakano S, Yanagimoto T, Hanamoto Y, Maeda-Tanimura M, Toyosaki-Maeda T, Ishizaki J, Matsuo Y, Fukui N, Itoh T, Ochi T, Suzuki R	The interaction of monocytes with rheumatoid synovial cells is a key step in LIGHT-mediated inflammatory bone destruction.	<i>Immunology</i>	128 (1 Suppl)	315-324	2009
Hikita A, Tanaka N, Yamane S, Ikeda Y, Furukawa H, Tohma S, Suzuki R, Tanaka S, Mitomi H, Fukui N	Involvement of a disintegrin and metalloproteinase 10 and 17 in shedding of tumor necrosis factor- α	Biochemistry and Cell Biology	87	581-593	2009
Mitomi H, Fukui N, Tanaka N, Kanazawa H, Saito T, Matsuo T, Yao T	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	136	323-331	2010

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Fukui S, Ogawa K, Ohtsuka M, <u>Fukui N</u>	Effect of communication skills training on nurses' detection of patients' distress and related factors after cancer diagnosis: a randomized study. <i>Psychooncology</i>	<i>Psychooncology</i>	18	1156-1164	2009
Nakajima M, Takahashi A, Kou I, Rodriguez-Fontenla C, Gomez-Reino JJ, Furuichi T, Dai J, Sudo A, Uchida A, Fukui N, Kubo M, Kamatani N, Tsunoda T, Malizos KN, Tsezou A, Gonzalez A, Nakamura Y, Ikegawa S	New sequence variants in HLA class II/III region associated with susceptibility to knee osteoarthritis identified by genome-wide association study	<i>PLoS One</i>	5	e9723	2010
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	67	42-47	2009

IV. 研究成果の刊行物・別冊

THE BONE 別刷



(株)メディカルレビュー社

〒541-0045 大阪市中央区道修町1-5-18 朝日生命道修町ビル TEL 06-6223-1469

〒113-0034 東京都文京区湯島3-19-11 イトーピア湯島ビル TEL 03-3835-3049

Ⅲ. OAの関節軟骨変性の評価

2. バイオマーカー

Biological markers

森田 充浩・山田 治基・伊達 秀樹

Mitsuhiro Morita(講師), Harumoto Yamada(教授), Hideki Date(助教) / 藤田保健衛生大学整形外科

key words

biological markers
osteoarthritis
joint cartilage
COMP
aggrecan

軟骨マトリックスを構成する成分のうち、関節液、血液、尿に放出される分子は軟骨代謝を評価する有力なバイオマーカー(biological markers)の候補となる。変形性関節症における関節軟骨の変性についてもいくつかの特異的なマーカーが報告されており、関節症の病期や病態との関連が示されている。また、これらのマーカーは関節症進行の予後予測や各種治療効果の判定にも寄与すると考えられる。

はじめに

変形性関節症(osteoarthritis : OA)をはじめとする種々の関節疾患において、その病態を評価するための診断学的指標とされる血液・尿・関節液などの体液中に存在する軟骨や滑膜由来の代謝産物である各種分子をバイオマーカー(biological markers)と称している(表)。OAの軟骨変性における病態は複数存在するが、その各々の病態を反映する各種のバイオマーカーが報告されている。

本稿では現時点で軟骨変性の過程において重要な指標となることが目されているバイオマーカーの代表例を列挙し、最近の知見を含め紹介する。

バイオマーカー

関節軟骨では軟骨細胞を中心に周囲の軟骨マトリックスを含めた密接な代謝関係が成立している。OAでは肥満による過度の荷重負荷や外傷をはじめとする異常な機械的ストレスのほか、加齢や遺伝その他の多因子要素が影響して軟骨の代謝異常と、その結果としての軟骨破壊が引き起こされる。そこには軟骨細胞を取り巻く緩衝体としての役割を担う軟骨マトリックスの変性と破壊、修復のメカニズムが大きく関与していると考えられている。また関節液を介した関節軟骨と滑膜との相互関係、そして軟骨層と軟骨下骨との各種因子の応答機構もOAの病態を解明するうえで重要と考えられている。こ

れら相互に関連する因子のうち、IL(interleukin)-1やIL-6, TNF(tumor necrosis factor)- α といった炎症性サイトカインの発現の亢進により蛋白分解酵素であるMMPs(matrix metalloproteinases)やアグリカナーゼ(a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs : ADAMTS), または活性酸素種といった異化因子の産生が高まり、局所での軟骨変性が起こる。また、OAにおける軟骨変性の際にはアポトーシスが惹起されることも明らかとなっている。関節軟骨、すなわち硝子軟骨の主要マトリックス成分であるII型コラーゲンやアグリカンなどは軟骨組織から分解放出された後、関節液からリンパ系や血液中に放出され、最終的には体外へ排出される。軟

表 軟骨代謝におけるバイオマーカーの候補

軟骨破壊のマーカー 1) 破壊された軟骨マトリックスの断片 ・アグリカン由来フラグメント ・Ⅱ型コラーゲン由来フラグメント ・マイナーコラーゲン由来フラグメント (COMP) 2) 破壊因子 ・プロテアーゼ ・プロテアーゼインヒビター ・サイトカイン ・成長因子 3) 滑膜由来分子 ・ヒアルロン酸 軟骨修復のマーカー 関節構成体の合成を反映するマーカー ・Ⅱ型コラーゲンCテロペプチド

骨マトリックスの構成要素を考慮した場合、主要マトリックスであるアグリカンとⅡ型コラーゲンが低分子化されたフラグメントが初期から認められる関節軟骨破壊の指標として代表的なマーカーとなるが、それ以外のマイナー蛋白のなかにも有望なマーカーが存在する。

1. アグリカンに由来するマーカー

硝子軟骨に存在するアグリカンは図のような分子構造を有しており、代謝の過程において分子構造の特定の部分が分解切断され低分子化される。特にG1-G2領域間にはMMPsやADAMTSにより特異的に切断される複数の部分が存在するのが特徴である。アグリカンの切断により生じる各種フラグメントは軟骨の代謝回転を反映するマーカーとなり得るが、これにはコア蛋白そのもの、IGD (interglobular domain) 内で酵素分解によって生じる neo-epitope, ケラタン硫酸(keratan sulfate :

KS)やコンドロイチン硫酸(chondroitin sulfate : CS), ヒアルロン酸結合蛋白(hyaluronic acid binding protein : HABP)などがある。アグリカンの側鎖として存在するKSやCSが軟骨破壊のマーカーとして知られているが、特にKSはその生体内での分布上、硝子軟骨に特異性が高いと考えられている。高速液体クロマトグラフィー (high performance liquid chromatography : HPLC)を用いてKSを測定すると病期の進行に伴って濃度が低下することが知られているが、これは病期の進行に伴う関節軟骨の残存量減少と軟骨代謝回転の低下を反映しているものと考えられている¹⁾。CSにはコンドロイチン6硫酸(C6S)とコンドロイチン4硫酸(C4S)があり、健常軟骨ではC6Sが多くみられるが、変性軟骨ではC4Sの割合が上昇することが知られており²⁾、その割合が病態の変化を表すマーカーとして有用であると考えられている。

2. Ⅱ型コラーゲンに由来するマーカー

Ⅱ型コラーゲン分子は生体内ではMMP-1, MMP-13などによって特異的に最初の分解を受ける。生じたコラーゲン分解産物が生体内でさらに低分子化された結果生じるC末端のⅡ型コラーゲン架橋テロペプチド(cross-linked telopeptide of type II collagen : CTX-II)が尿中および血中にて測定可能である。尿中CTX-IIは、股関節OA患者で年間1mm以上の早さで関節裂隙の狭小化の進行が進む症例において濃度が高いことが知られており、OAの予後予測に有望なマーカーであると考えられている³⁾。ただし、CTX-IIは骨代謝マーカーであるⅠ型コラーゲンに由来するCTX-Iとの高い相関が報告されており、また女性では男性よりも高いといった性差を認めることから骨代謝の影響を受けていることが考えられるため注意を要する。

3. マイナー蛋白に由来するマーカー

関節軟骨にはまだ機能の解明されていないさまざまなマイナー蛋白が存在する。COMP (Cartilage oligomeric matrix protein)は細胞外基質糖蛋白の一種であり、軟骨・靱帯・腱・滑膜などでの存在が知られている。このCOMP遺伝子の突然変異に起因して偽性軟骨形成不全症が発症することが知られている。COMPはⅡ型コラーゲン線維の安定化に関与していると考えられている。COMPは関節液だけではなく血液でも測定可能なマーカーである。膝OAではKellgren & Lawrence

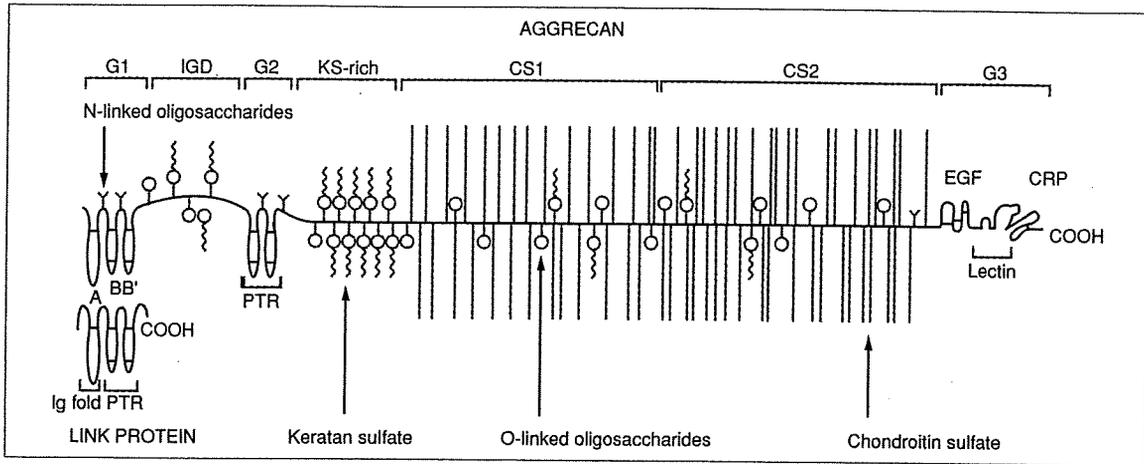


図 アグリカンの構造
(Hardingham T : Glycoforum, 1998より引用)

(K-L)分類による病期の進行とともに血清 COMP 濃度が上昇する。人工膝関節置換術の対象となるほどの末期においては却って血清 COMP 濃度が低下していることがわかっているが、これは KS と同様に関節軟骨残存量の減少と代謝活性の低下を反映しているものと考えられている⁹⁾。COMP 自身は関節軟骨特異性はないが、関節液中における濃度が主要マトリックスであるアグリカンのマーカーである KS と強い正の相関を認めることから⁹⁾、初期から進行期における関節破壊の病態を反映するのに有望なマーカーと考えられる。伊達らは、有痛性の膝 OA 患者において、受診時をベースラインとする血清 COMP 濃度高値の症例には、関節裂隙の狭小化が急速に進む症例の多いことを報告している⁹⁾。また、わが国の大規模住民コホートにおける血清 COMP 濃度と膝 OA との関係の調査では、K-L 分類による病期の進行とともに血清 COMP 濃度の上昇をき

たすことが明らかとなり、血清 COMP が膝 OA の病態の進行を密接に反映していることが示された⁷⁾。血清 COMP は CTX-II と異なり性差や骨代謝マーカーとの相関を認めないことから、OA における軟骨変性を評価するためのバイオマーカーとして中心的役割を果たすのではとの期待が高い。

4. プロテアーゼ

OA における軟骨マトリックスの破壊に関与する種々のプロテアーゼの存在が知られている。なかでも MMPs は、以前からアグリカンや II 型コラーゲンなどの主要マトリックス分解および低分子化による軟骨破壊の中心的役割を担うプロテアーゼとして重視されてきた。これまで軟骨破壊には MMP が中心的な役割を果たすとされてきたが、近年の研究ではアグリカンの破壊には ADAMTS と呼ばれる別の金属系プロテアーゼ(アグリカナーゼ)が関与していることが知られている⁸⁾。また、

OA における II 型コラーゲン分解についても MMP-1 より MMP-13 の役割が大きいことが明らかとなっている。ADAMTS は OA 評価におけるバイオマーカーとして有望であるが、物質的に不安定であり簡便な測定法が一般化していないことが臨床応用上の問題点であり、今後の技術的進歩が望まれる。

5. ヒアルロン酸(hyaluronan : HA)

N-アセチル・グルコサミン(N-acetyl-D-glucosamine) と グルクロン酸(D-glucuronic acid) の二糖の繰り返しからなる直鎖状の多糖類である HA は、関節液の主成分として関節軟骨間の潤滑を担っているが、関節液中の HA の多くは滑膜由来である。健康成人の膝関節液中 HA の分子量は 400~500 万 Da である。OA や関節リウマチなどの関節疾患患者では HA の分子量と濃度の低下を認める。HA の分子量の低下は分解酵素や活性酵素種的作用によるものが主体であり、分子量や濃度の

低下は関節軟骨の表面潤滑を損ない、また衝撃吸収能力の低下とも相まってさらなる軟骨変性を誘発させる要因となる。HA は関節リウマチでは滑膜炎症を反映するマーカーとされてきたが、OA においては病期でのばらつきが大きい。その一方で、血清 HA 濃度は関節腫脹や疼痛といった OA の臨床症状との有意な相関を認めており、OA における滑膜炎症のマーカーとして有用と考えられる。ただし、肝臓の線維化を伴う器質的疾患においては血清 HA 濃度がもともと高値を示すため、高齢者において OA の評価として用いる際にはこれら臓器疾患の存在を加味して取り扱う必要がある。

6. コンドロカルシン(Ⅱ型コラーゲンCテロペプチド)

軟骨修復は OA に特徴的な病態であるが、その指標としての適切なマーカーが少ないのが現状である。軟骨細胞によって合成されたプロⅡ型コラーゲン分子が細胞外で線維化する際に切断された C 末端であるコンドロカルシン(Ⅱ型コラーゲン C テロペプチド)は、ヒト OA 軟骨のクラスター形成細胞や骨軟骨棘といった代謝活性の亢進している細胞周囲で多く認められる。コンドロカルシンは、関節液では関節リウマチに比較して OA で有意に高値を示すことから、軟骨マトリックス合成を反映した軟骨修復のマーカーと考えられている。

関節におけるバイオマーカー

わが国を含む高齢化の進んだ先進諸国では、OA や関節炎に起因する関節症状の増悪と筋力低下、骨粗鬆症の進行などが相まって運動機能低下が著しく進行し、最終的に寝たきり状態となる高齢者が今後ますます増加することが予想される。OA の発症初期を画像診断やバイオマーカーで捉えて、早期に治療することにより軟骨変性の進行を未然に防ぐことが望ましいが、いまだ OA における決定的な治療薬が存在していない現状において、近年、生物学的製剤の普及によって疾病寛解の可能性が謳われつつある関節リウマチとは依然格段の差がある。関節リウマチが血清抗体や炎症マーカーを診断基準に盛り込んでいる点も、劇的な臨床症状変化を呈する炎症性疾患と、年単位で緩やかに進行することの多い変性疾患との時系列の違いを感じさせる。OA におけるバイオマーカー研究の進歩が疾病の診断および変性による病態進行の把握だけでなく、臨床応用としての治療効果判定などの指標として活用されていくためには、今後の真の

OA 治療薬の出現が必要である。

文献

- 1) Yamada H, Miyauchi S, Morita M, et al : Content and sulfation pattern of keratan sulfate in hip osteoarthritis using high performance liquid chromatography. *J Rheumatol* **27** : 1721-1724, 2000
- 2) Yamada H, Miyauchi S, Hotta H, et al : Levels of chondroitin sulfate isomers in the synovial fluid of patients with hip osteoarthritis. *J Orthop Sci* **4** : 250-254, 1999
- 3) Garnero P, Conrozier T, Christgau S, et al : Urinary type II collagen C-telopeptide levels are increased in patients with destructive hip osteoarthritis. *Ann Rheuma Dis* **62** : 939-943, 2003
- 4) 伊達秀樹, 山田治基, 金治有彦, 他 : OA および RA における血清 COMP 値の変動について. *日整会誌* **80** : S972, 2006
- 5) Kato S, Yamada H, Terada N, et al : Joint biomarkers in idiopathic femoral head osteonecrosis ; comparison with hip osteoarthritis. *J Rheumatol* **32** : 1518-1523, 2005
- 6) 伊達秀樹, 山田治基, 森田充浩, 他 : 変形性膝関節症における血清

森田 充浩(Mitsuhiro Morita)

1992年 防衛医科大学校 卒業
1995年 Walter-Reed Army Medical Center 留学
2002年 米国 NIH (NIDCR) 留学
2003年 防衛医科大学校医学研究科 卒業
防衛医科大学校病院, 北海道第7師団医務官, 防衛省陸上幕僚監部衛生部, 自衛隊中央病院勤務等を経て, 2007年から藤田保健衛生大学整形外科 講師
専門分野: リウマチ・関節外科, 骨軟骨代謝ほか



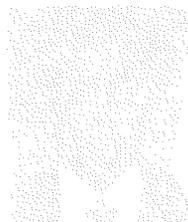
COMP・HA についての検討. 日本
軟骨代謝学会誌 **21**: 81, 2008

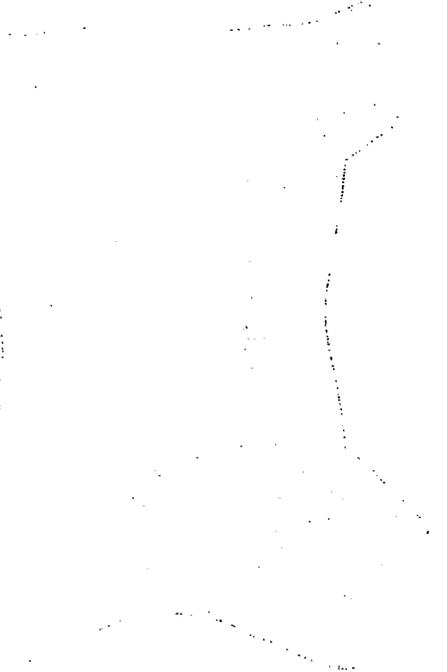
- 7) Morita M, Yamada H, Yoshimura
N, et al : Evaluation of the useful-
ness of biomarkers in knee osteo-

arthritis or lumbar spondylosis in
mass cohort study of Japan. Osteo-
arthritis Cartilage **16**: S54, 2008

- 8) Sandy JD : A contentious issue
finds some clarity ; on the indepen-

dent and complementary roles of
aggrecanase activity and MMP activ-
ity in human joint aggrecanolysis.
Osteoarthritis Cartilage **14**: 95-100,
2006

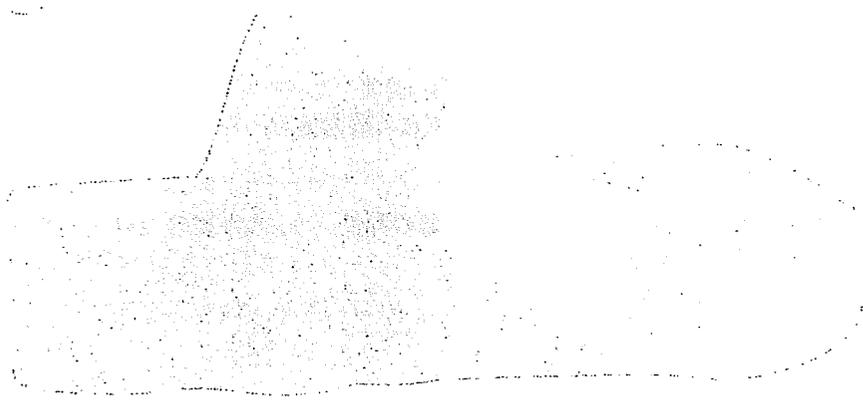




運動療法

黒澤尚 編

金原出版株式会社



目次

第I章 基礎編

1. 機械的刺激と骨組織 (野田政樹) 2
 I. 骨のメカノバイオロジーについて / II. 骨細胞 / III. メカノセンサー / IV. シグナルの交換 / V. 細胞骨格 / VI. チャンネル / VII. 転写因子
2. 物理的刺激と軟骨細胞 (秋本崇之・牛田多加志) 6
 I. 背景 / II. 生理的静水圧下長期培養システムと脱分化軟骨細胞の再分化
3. 力学的負荷と腱組織 (遠山晴一・安田和則) 12
 I. 腱組織の構造・組成および力学的特性 / II. 力学的負荷が腱組織に与える影響 / III. 力学的負荷が腱線維芽細胞に与える影響 / IV. 考察
4. 滑膜細胞のメカニカルストレスに対する応答性
 (坂本優子・石島旨章・平澤恵理・黒澤 尚) 19
 I. メカニカルストレスに対するメカノセンサー / II. メカニカルストレスによる細胞の形態学的変化
5. 運動と内分泌 (飛奈卓郎・田中宏暁) 24
 I. 身体虚弱者に対する運動療法と成長因子 / II. 痛風・高尿酸血症に対する運動療法 / III. 運動と抗炎症作用
6. 運動と免疫 (鈴井正敏) 31
 I. 運動というストレス / II. 運動(一過性)の影響 / III. トレーニング(慢性運動)の影響
7. 運動器と痛み (山下敏彦) 40
 I. 運動器の侵害受容システム / II. 炎症性疼痛 / III. 神経因性疼痛
8. 運動器慢性疾患に対する行動変容のための認知行動療法的アプローチ
 (津下一代) 47
 I. 生活習慣病としての運動器慢性疾患 / II. 認知行動療法と運動 / III. 認知行動療法的なアプローチの基本 / IV. 行動変容ステージモデルを活用した運動療法指導の実際 / V. 行動変容のための技術を高めるためには
9. 変形性関節症の生物学的マーカー (森田充浩・伊達秀樹・山田治基) 56
 I. アグリカンに由来するマーカー / II. II型コラーゲンに由来するマーカー / III. マイナープロテインに由来するマーカー / IV. コンドロカルシン(II型コラーゲンCテロペプチド) / V. ヒアルロン酸(hyaluronan: HA) / VI. プロテアーゼ / VII. 関節疾患の評価における生物学的マーカーの臨床的有用性
10. 慢性運動器疾患の評価法 (赤居正美・岩谷 力・土肥徳秀) 62
 I. 評価指標 / II. 運動・動作・活動の関連 / III. アウトカムと構成概念 / IV. 評価尺度の計量心理学的検討 / V. 構成概念の構造検討 / VI. 考察
11. 水中運動の特性と利点 (武藤芳照・太田美穂・高杉紳一郎) 73
 I. 水の物理学的特性に伴う水中運動の特性 / II. 水中運動の利点と効果 / III. 水中運動に伴う注意

9. 変形性関節症の生物学的マーカー

森田充浩*1 伊達秀樹*2 山田治基*3

変形性関節症 (osteoarthritis : OA) を始めとする種々の関節疾患において、その病態を評価するための診断学的指標とされる血液・尿・関節液などの体液中に存在する軟骨や滑膜由来の代謝産物である各種分子を生物学的マーカー (biological markers) という。OAの軟骨変性においては複数の病態機序が存在するが、その各々の病態を反映する各種の生物学的マーカーが報告されており(表1)、また、そのいくつかは関節症進行の予後予測にも寄与することが知られてきている。

関節軟骨では軟骨細胞を中心に周囲の軟骨マトリクスを含めた密接な代謝関係が成立している(図1)。OAでは肥満による過度の荷重負荷や外

傷を始めとする異常な機械的ストレスのほか、加齢や遺伝その他の多因子要素が影響して軟骨の代謝異常とその結果としての軟骨破壊が引き起こされる。そこには軟骨細胞を取り巻く緩衝体としての役割を担う軟骨マトリクスの変性と破壊、修復のメカニズムがかかわっており、絶えず反応を繰り返しながら次第に変性を進行させていくと考えられている。また関節液を介した関節軟骨と滑膜との相互関係や軟骨層と軟骨下骨との各種因子の関係もOAの病態において重要と考えられている。これらの因子のうち、インターロイキン(interleukin : IL)-1やIL-6、腫瘍壊死因子(tumor necrosis factor- α : TNF- α)などの炎症性サイト

表1. 主な生物学的マーカー

軟骨マーカー	
分解・破壊マーカー ● II型コラーゲン成分 II型コラーゲンC末端架橋テロペプチド (CTX-II) II型コラーゲンコラゲナーゼネオエピトープ (C2C, C12C) II型コラーゲンヘリカルフラグメント (Helix-II) ● アグリカン成分 ケラタン硫酸 (エピトープ5D4, ANP9) コンドロイチン6硫酸 (C6S) ● 非コラーゲン性蛋白 cartilage oligomeric matrix protein (COMP)	合成マーカー ● II型コラーゲン成分 N末端, C末端プロペプチド (PIICP, PIIANP, PIBNP) ● アグリカン成分 コンドロイチン硫酸 (エピトープ846, 3B3, 7D4) ● 非コラーゲン性蛋白 ヒト軟骨グリコプロテイン (YKL-40) cartilage-derived retinoic acid sensitive protein (CD-RAP)
滑膜炎マーカー	
● III型コラーゲン成分 III型コラーゲンプロペプチド (PIIINP) glucosyl-galactosyl-pyridinoline (Glc-Gal-PYD) ● 非コラーゲン性蛋白 ヒアルロン酸 (HA) YKL-40 ● プロテアーゼ, 炎症性サイトカイン マトリクスメタプロテアーゼ (MMP-1, 2, 3, 9) tissue inhibitors of metalloproteinase (TIMPs) インターロイキン (IL-1, IL-6) 腫瘍壊死因子 (TNF- α)	

*1Mitsuhiro MORITA *2Hideki DATE *3Harumoto YAMADA:
 藤田保健衛生大学整形外科

カインの発現亢進により蛋白分解酵素であるマトリクスメタロプロテアーゼ (matrix metalloproteinases : MMP) やアグリカナナーゼ (aggrecanase), または活性酸素種 (nitrogen oxgenase : NO) といった異化因子の産生が高まり, 局所での軟骨変性が生じる。併せて OA における軟骨変性の際にはアポトーシスが惹起されることも明らかとなっている。関節軟骨, すなわち硝子軟骨の主要マトリクス成分である II 型コラーゲンやアグリカンなどは, これらの蛋白分解酵素の作用により軟骨組織から解放出された後, 関節液からリンパ系や血液中に放出され, 最終的には体外へ排出される。軟骨マトリクスの構成要素を考慮した場合, 関節軟骨に存在する主要マトリクスであるアグリカンと II 型コラーゲンが低分子化されたフラグメントが関節軟骨破壊の指標として代表的なマーカーとなるが, それ以外のマイナー蛋白の中にも有望なマーカーが存在することが近年明らかになっている。本項では現時点で軟骨変性の過程において重要な指標となることが目されている生物学的マーカーの代表例を列挙し, 最近の知見を含め紹介する。

II. アグリカンに由来するマーカー

硝子軟骨に存在するアグリカンは, 代謝の過程

において分子構造の特定の部分が分解切断され低分子化される。特に G1-G2 ドメイン間には MMP やアグリカナナーゼにより特異的に切断される複数の部分が存在するのが特徴である (図2)。アグリカンの切断により生じる各種フラグメントは軟骨の代謝回転を反映するマーカーとなり得るが, これには core protein そのもの, IGD 領域で酵素分解によって生じる neo-epitope, ケラタン

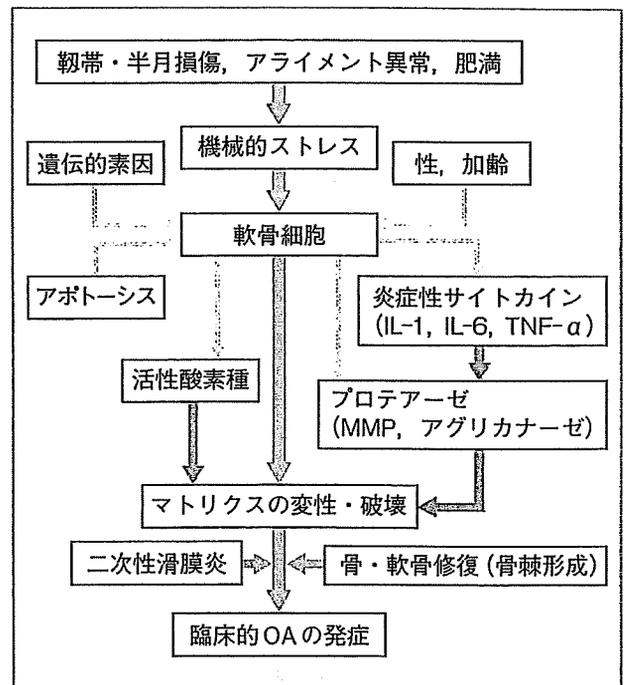


図1. OAの発症機序

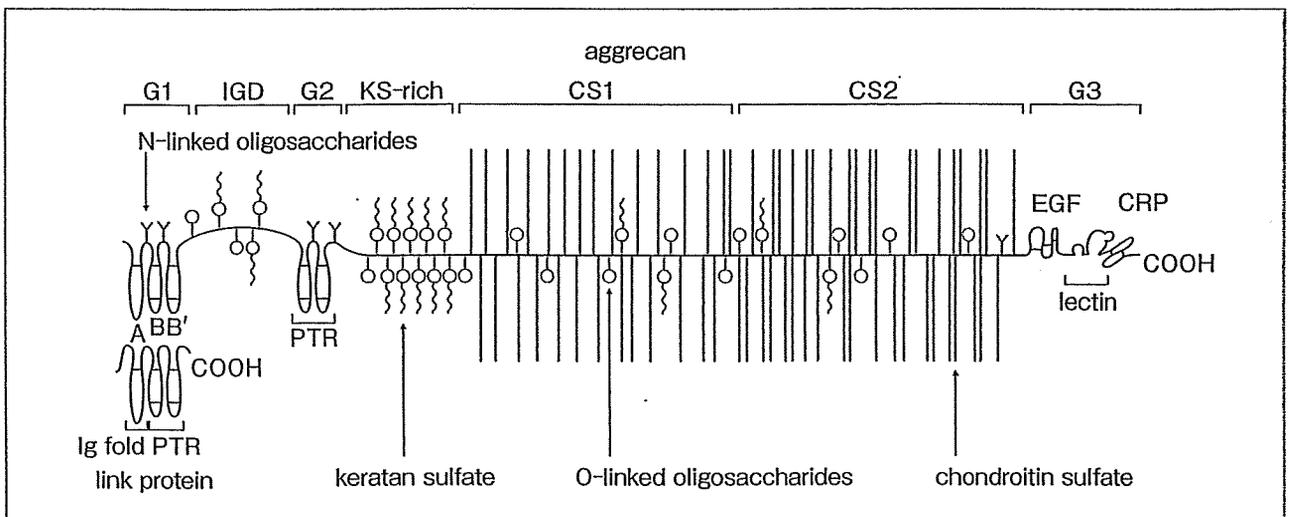


図2. アグリカンの構造

(グライコフォーラムホームページ「今日のヒアルロン酸科学—5」より引用)

硫酸 (keratan sulfate : KS) やコンドロイチン硫酸 (chondroitin sulfate : CS) といったグリコサミノグリカン (GAG), HA-binding protein などがある。アグリカンの側鎖として存在する KS や CS は軟骨破壊のマーカーとして知られているが、特に KS はその生体内での分布上、硝子軟骨に特異性が高いと考えられている。アグリカンや GAG をケラターゼ II で処理し、アグリカン中の KS を二糖に分解し、高速液体クロマトグラフィー (high performance liquid chromatography : HPLC) に添加して溶出された飽和二糖を定量することで KS を測定することができるが、この方法によって OA 病期の進行に伴って KS 濃度が低下することが知られており、病期の進行に伴う関節軟骨の残存量減少と軟骨代謝回転の低下を反映しているものと考えられている¹⁾。

同様の方法でアグリカンをコンドロイチナーゼ ABC とコンドロイチナーゼ AC-II で処理することにより CS を不飽和二糖に分解し、HPLC に添加して定量することによりコンドロイチン6硫酸 (C6S) とコンドロイチン4硫酸 (C4S) が測定できる。健常軟骨では C6S が多いが、変性軟骨や滑膜では C4S の割合が上昇する²⁾。股関節 OA の関節液中の C6S 濃度は関節軟骨総量の残存軟骨量の減少を反映して、X線病期の進行とともに減少傾向を示す。生物学的マーカーとしてみた場合、関節液濃度は関節液量によって希釈の影響を受けることから、これを補正するために C6S/C4S 比率をみたところ、C6S/C4S 比は OA 病期の進行とともに有意に低下することが示された (図3)。この比率の低下は軟骨残存量の低下のみならず、関節軟骨の変性に伴う破壊と合成の結果を受けてのマトリクス代謝回転を反映しているものと考えられている。膝関節の外傷による十字靭帯損傷や半月板損傷では関節軟骨損傷を合併しやすく将来的に膝 OA を発症する可能性があるが、これらの外傷後の膝関節液中の C6S や C4S を測定すると、受傷早期に極めて高値となり次第に低下していくことが報告されている³⁾。すなわち、軟骨マトリクスの破壊の程度を CS 濃度によって

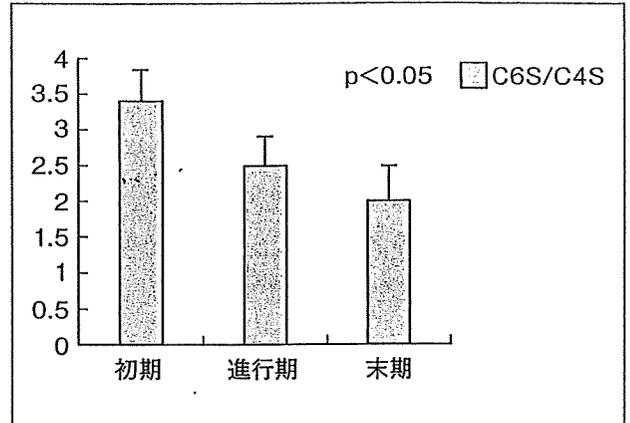


図3. OA病期とC6S/C4Sの関係

モニタリングすることができると考えられ、膝外傷後の病態のフォローアップや将来の二次性 OA の発症予知に有用な指標となり得る。

II. II型コラーゲンに由来するマーカー

II型コラーゲン分子は生体内では MMP-1, -13 などによって三本鎖構造に特異的な最初の分解を受ける。生じたコラーゲン分解産物が生体内でさらに低分子化された結果生じる C 末端の II 型コラーゲン架橋テロペプチド (crosslinked telopeptide of type II collagen : CTX-II) が尿中および血中にて測定可能である。尿中 CTX-II は関節破壊をきたす病態を有する OA や RA において正常例と比較して高値を示すことが知られているが、筆者らが日本人の地域住民コホート研究で調査した生物学的マーカーの変化においても膝 OA の単純レントゲン画像上の病期進行と比例して尿中 CTX-II も上昇することが示されており、関節症進行および重症度の診断と評価に有効なマーカーとなり得ることが確認された⁴⁾。また、尿中 CTX-II は股関節 OA で年間 1mm 以上の速さで関節裂隙の狭小化が進む症例において濃度が高いことが知られており、OA の関節破壊進行のリスクを評価することによる予後予測に有望なマーカーであるとも考えられている⁵⁾。また、尿中 CTX-II については HA 関節内注入療法においても治療効果を評価できる可能性が示唆されてお

り⁶⁾、さらにその評価についての検討が進められている。一方で、CTX-IIは骨代謝マーカーであるI型コラーゲンに由来するCTX-Iとの高い相関性が報告されていること、また女性では男性よりも高いといった性差を認めることから骨代謝の影響を多分に受けていることが考えられるので、その評価と解釈には注意を要する。

Ⅲ. マイナープロテインに由来するマーカー

関節軟骨には機能のまだ解明されていないさまざまなマイナープロテインが存在する。cartilage oligomeric matrix protein (COMP)は細胞外基質糖蛋白の一種であり、軟骨・靭帯・腱・滑膜などでの存在が知られている。このCOMP遺伝子の突然変異に起因して偽性軟骨形成不全症が発症することが知られている。COMPはII型コラーゲン線維の安定化に関与していると考えられている。COMPは関節液だけではなく血清でも測定可能なマーカーである。血清COMPは膝OAではKellgren-Lawrence (KL)分類による病期の進行とともに上昇する。血清COMPは人工膝関節置換術の対象となるほどの末期においてはかえって低下していることがわかっているが、これはKSと同様に関節軟骨残存量の減少と代謝活性の低下を反映しているものと考えられている⁷⁾。COMP自身については関節軟骨特異性はないものの関節液中における濃度が主要マトリクスであるアグリカンのマーカーであるKSと強い正の相関を認めることから⁸⁾、初期から進行期における関節破壊の病態を反映するのに有望なマーカーと考えられる。有痛性の膝OA患者においては、受診時をベースラインとする血清COMP濃度高値の症例において関節裂隙の狭小化が急速に進む症例の多いことが報告されている⁹⁾。また、日本における大規模住民コホートにおける血清COMP濃度と膝OAとの関係の調査では、K-L病期の進行とともに血清COMP濃度の上昇をきたすことが明らかとなり、病態の進行を密接に反映していることが示されている⁴⁾。この研究では血清

COMPはCTX-IIと異なり性差や骨代謝マーカーとの相関を認めないことも判明しており、OAにおける軟骨変性を評価するための生物学的マーカーとして安定した中心的役割を果たすのではとの期待がもたれている。

Ⅳ. コンドロカルシン(II型コラーゲンCテロペプチド)

軟骨修復はOAに特徴的な病態であり、その指標には適切なマーカーが少ないのが現状であるが、そのなかにおいて軟骨細胞によって合成されたプロII型コラーゲン分子が細胞外で線維化する際に切断されたC末端であるコンドロカルシン(II型コラーゲンCテロペプチド)は、ヒトOA軟骨のクラスター形成細胞や骨軟骨棘といった代謝活性の亢進している細胞周囲で多く認められることがこれまでの研究で判明している。関節液では関節リウマチ(RA)に比較してOAで有意に高値を示すことから、軟骨マトリクス合成を反映した軟骨修復のマーカーと考えられている。

Ⅴ. ヒアルロン酸(hyaluronan: HA)

N-acetyl-D-glucosamineとD-glucuronic acidの二糖の繰り返しからなる直鎖状の多糖類であるHAは関節液の主成分として関節軟骨間の潤滑を担っているが、関節液中のHAの多くは滑膜由来である。健康成人の膝関節液中HAの分子量は約215~496万Daで、その濃度は3.65mg/mL程度であるが、OAやRAなどの関節疾患ではHAの分子量と濃度の低下を認め、特に膝OA患者ではHA分子量が159~358万Da、濃度は1.70mg/mLと低下していることが報告されている¹⁰⁾。分子量の低下は分解酵素や活性酵素種的作用によるものが主体であるが、分子量や濃度の低下は関節軟骨の表面潤滑を損ない、また衝撃吸収能力の低下とも相まってさらなる軟骨変性を誘発させる要因となる。HAはRAでは滑膜炎を反映するマーカーとされてきたが、OAにおいては病期でのばらつきが大きい。その一方で、血清HAは関節腫脹や疼痛といったOAの臨床症状との有意な

相関を認めており、OAにおける滑膜炎のマーカーとして有用と考えられる。ただし、肝臓の線維化を伴う器質的疾患においては血清HA濃度が高値を示すため、高齢者の多いOAの評価として用いる際にはこれら臓器疾患の存在を加味して取り扱う必要がある。

VI. プロテアーゼ

OAにおける軟骨マトリクスの破壊に関与する種々のプロテアーゼの存在が知られている。なかでもMMPは以前から、アグリカンやII型コラーゲンなどの主要マトリクス分解、低分子化による軟骨破壊の中心的役割を担うプロテアーゼとして重視されてきた。軟骨破壊にはMMPが中心的な役割を果たすとされてきたが、近年の研究ではアグリカンの破壊にはADAM-TSと呼ばれる別の金属系プロテアーゼ(アグリカナーゼ)が関与していることが知られている¹¹⁾。また、OAにおけるII型コラーゲン分解についても、MMP-1よりもMMP-13の役割が大きいたことが明らかとなっている。アグリカナーゼはOA評価における生物学的マーカーとして有望であるが、物質的に不安定であり簡便な測定法が一般化していないことが臨床応用上の問題点であり、今後の技術的進歩が望まれる。

VII. 関節疾患の評価における生物学的マーカーの臨床的有用性

本邦を含む先進諸国ではOAや関節炎に起因する関節症状の増悪と筋力低下、骨粗鬆症の進行等が相まって運動機能低下が著しく進行し、最終的に要介護となる高齢者が今後ますます増加することが予想される。OAに対する種々の保存療法の重要性が見直されているなか、OAの発症初期を画像診断や生物学的マーカーで捉えて早期に治療することにより軟骨変性の進行を未然に防ぐことが望ましく、生物学的マーカーを用いてOA病態をモニタリングしながら治療選択を行うことができるような診断と治療のツールを作成することは緊急性を要する課題である。しかしいまだにOA

における決定的な治療薬が存在していないこともあり、近年、生物学的製剤の普及によって疾病寛解の可能性が謳われつつあるRAと比較して劣勢であることは否めない。RAでは治療による劇的な臨床症状変化を呈し、血清抗体や炎症マーカーを診断基準に盛り込んでいるが、年単位で緩やかに進行することの多い変性疾患であるOAでは必ずしも現存するマーカー種で対応できているとはいえない。OAにおける生物学的マーカー研究の進歩は単に疾病の診断および病態進行の把握だけでなく、臨床応用としての治療効果判定等の指標や既存のHA、ビスフォスフォネート、CSやグルコサミンなども含めたOA治療の試みにおける正確な臨床評価、さらには開発途上における新規の抗OA治療薬の薬効スクリーニング、評価などに応用され得るものと期待されている。

文献

- 1) Yamada H, Miyauchi S, Morita M, et al : Content and sulfation pattern of keratan sulfate in hip osteoarthritis using high performance liquid chromatography. *J Rheumatol* 27 : 1721-1724, 2000
- 2) Yamada H, Miyauchi S, Hotta H, et al : Levels of chondroitin sulfate isomers in the synovial fluid of patients with hip osteoarthritis. *J Orthop Sci* 4 : 250-254, 1999
- 3) 吉原愛雄, 山田治基, 宮内 聡ほか : 前十字靭帯損傷後の関節液中軟骨基質成分濃度の検討. *リウマチ* 36 : 734, 1996
- 4) Morita M, Yamada H, Yoshimura N, et al : Evaluation of the usefulness of biomarkers in knee osteoarthritis or lumbar spondylosis in mass cohort study of Japan. *Osteoarthritis and Cartilage* 16 : S54, 2008
- 5) Garnerio P, Conrozier T, Christgau S, et al : Urinary type II collagen C-telopeptide levels are increased in patients with destructive hip osteoarthritis. *Ann Rheuma Dis* 62 : 939-943, 2003
- 6) 菊池 啓 : 変形性膝関節症に対する保存療法—ヒアルロン酸製剤. *MB Orthop* 20 : 115-119, 2007
- 7) 伊達秀樹, 山田治基, 金治有彦ほか : OAおよびRAにおける血清COMP値の変動について. *日整会誌* 80 : S972, 2006
- 8) Kato S, Yamada H, Terada N, et al : Joint biomarkers in idiopathic femoral head osteonecrosis : comparison with hip osteoarthritis. *J Rheumatol* 32 : 1518-1523, 2005
- 9) 伊達秀樹, 山田治基, 森田充浩ほか : 変形性関節症における血清COMP・HAについての検討. *日本軟骨代謝学会誌* 21 : 81, 2008

- 10) 近藤 仁：正常および病的ヒト関節液の粘性に関する研究. 北里医学 10 : 485-498, 1980
- 11) Sandy JD : A contentious issue finds some clarity : on the independent and complementary roles of

aggrecanase activity and MMP activity in human joint aggrecanolysis. Osteoarthritis Cartilage 14 : 95-100, 2006

運動器慢性疾患に対する運動療法

定価(本体7,500円+税)

2009年9月11日 第1版 第1刷発行

編者 黒澤 尚^{くろさわ ひさし}

発行者 川井 弘光

発行所 金原出版株式会社

〒113-8687 東京都文京区湯島2-31-14

電話 編集 (03) 3811-7162

営業 (03) 3811-7184

FAX (03) 3813-0288

振替口座 00120-4-151494

<http://www.kanehara-shuppan.co.jp/>

©2009

検印省略

Printed in Japan

ISBN 978-4-307-25143-3

印刷・製本/真興社

JCOPY <(社)出版者著作権管理機構 委託出版物>

本書の無断複写は著作権法上での例外を除き禁じられています。複写される場合は、そのつど事前に、(社)出版者著作権管理機構(電話 03-3513-6969, FAX 03-3513-6979, e-mail: info@jcopy.or.jp)の許諾を得てください。

小社は捺印または貼付紙をもって定価を変更致しません。
乱丁、落丁のものはお買上げ書店または小社にてお取り替え致します。