

分担研究報告書

油症患者の関節症状に関する研究 —Kynurenine pathway の関節炎への影響—

研究分担者 津嶋 秀俊 九州大学病院 整形外科 助教

研究要旨 油症患者が、発症初期より骨・関節症状を有することは報告されている。診断基準の参考所見より関節痛は含まれてはいないが、油症発症より50年が経過した現在においても、多くの油症患者が、骨・関節症状を訴えており、その病態を理解し、解決していくことが必要である。

A.研究目的

ダイオキシン類が運動器機能へ影響を及ぼすことは知られており、特に関節腫脹、関節痛は発症初期より発生する。2005年の油症認定患者を対象に施行されたアンケート調査においては、72.5%の患者が何らかの関節痛を有していた。ダイオキシン類レベルと、関節痛特に膝関節痛との間には正の関連があると報告されている。ダイオキシン類の作用は aryl hydrocarbon receptor (AhR)を介して調節されている。ダイオキシン類を含む ligand が AhR に結合すると、核内に移行し、種々の因子が転写、産生されることになる。関節の腫脹や疼痛を惹起するのは滑膜の炎症であることが多いが、この関節内滑膜においても AhR が発現していることは知られている。AhR の ligand の一つにキヌレニン(KYN)がある。食事によって摂取された必須アミノ酸であるトリプトファン(Trp)の99%はKYNに代謝される。この代謝経路はキヌレニン経路(Kynurenine Pathway: KP)とよばれ、Trp から KYN への代謝は、律速段階酵素であるインドレアミン 2,3-デオキシゲナーゼ (IDO) によって行われる。そして、IDO は炎症性

サイトカインによって活性化されることが知られている。変形性関節症(Osteoarthritis: OA)や関節リウマチ(Rheumatoid arthritis: RA)では IL-1 β 、TNF- α 、TGF- β 、IFN- γ 、IL-6 など炎症促進性サイトカインが上昇し、関節内においてIDOの活性化、つまりKPが活性化されていると推測される。しかし、OAやRAにおけるKYN、KPの役割についてはまだ明らかでない。

OAやRAなど関節炎において、AhRのendogeneous ligandであるKYN、およびKYN経路、その代謝産物の役割を明らかにすることを通して、油症の関節症状の病態の理解を深めることが、この研究の目的である。KPの簡略図をFigure1に示す。

B.研究計画・方法

KYNを中心としたトリプトファンの代謝産物の関節内における影響をin vitroもしくはex vivoで検討する。マウス由来前駆軟骨細胞株ATDC5や、OAもしくはRA患者もしくはマウスの関節軟骨および滑膜を採取し細胞を抽出し細胞培養するかorgan cultureを行い、KYNおよびさらに下流の

代謝産物、代謝酵素の inhibitor を用いて刺激する。刺激後、軟骨変性の変化をサフラニン O 染色で評価する。刺激を受けた滑膜細胞もしくは軟骨細胞軟骨細胞の合成因子 (aggrecan, Col2 など) や軟骨変性因子 (Col10、MMP1、MMP3、MMP13、ADAMTS5 など) の遺伝子発現変化を PCR にて、蛋白発現を免疫染色にて解析する。

C. 研究結果

マウス由来前駆軟骨細胞株 ATDC5 に、KYN, Kynurenic Acid (KYNA), IDO inhibitor, KMO inhibitor で 48 時間刺激を行い回収し、軟骨基質の Acan, 基質分解酵素の 1 つである MMP13 の mRNA の発現をみたところ、KYN では Acan の発現が減少し、MMP13 の発現が上昇していた (Figure2)。IDO inhibitor 投与を行ったが、KYN と同様の結果となった。代謝産物の一つである KYNA を投与すると、KYN と反対に Acan mRNA 発現は軽度上昇を呈し、MMP13 mRNA 発現は抑制されていた。そこで、KMO inhibitor を投与し、KYNA の増加へと代謝を誘導すると KYNA 投与の結果と同様に Acan の発現は上昇し、MMP13 の発現は減少していた。

D. 考察

AhR の endogeneous ligand として知られる KYN が軟骨細胞において、catabolic な作用を有している可能性が示された。一方で、KP 代謝産物の一つである KYNA は anabolic な作用を有していた。KYN pathway 内の代謝産物によって、関節における作用が異なることが示唆された。この増加した KYN を KYNA へと代謝できれば、

軟骨保護作用へと変換できる可能性がある。

関節炎において、関節液は貯留することが多く、関節液内の代謝産物はその関節炎の状態や病態を探るための重要な材料となる。関節内代謝産物を分析するために、健常者の関節液および膝関節や足関節 OA 患者の関節液を採取し、メタボローム解析を行い比較した。OA 関節液中には Trp と KYN が増加していたことが分かった。この増加した KYN およびキヌレニン経路の亢進が、関節内の滑膜や軟骨に対してどのような影響を及ぼすかを調べることは関節炎の病態解明につながると考える。

E. 結論

KYN が関節内に過剰に増加することは、軟骨変性など負の影響を及ぼす可能性がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

Figure1

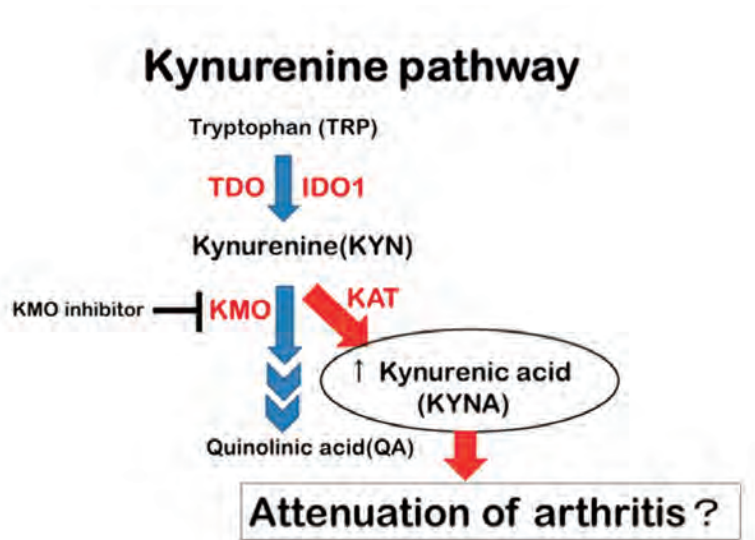


Figure2

