

令和元年6月12日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10923

研究課題名(和文)局所的レニン・アンジオテンシン系(RAS)活性化による関節軟骨変性の機序の解明

研究課題名(英文)Articular cartilage degeneration due to activation of the local renin-angiotensin system (RAS)

研究代表者

赤木 将男 (AKAGI, Masao)

近畿大学・医学部・教授

研究者番号：00273441

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：内側半月不安定化(C57/BL6マウス)および強制走行(つくば高血圧マウス)による膝OAモデルを用いて、局所レニン・アンジオテンシン系(RAS)活性化と関節軟骨組織の変性の関連を検討した。また、軟骨細胞に発現するAT1R機能を明らかにするために、ウシ関節軟骨細胞の3次元培養を行い、周期的圧迫負荷およびアンジオテンシンII添加の細胞分化に与える影響を検討した。軟骨細胞は肥大分化に伴いAT1R・AT2Rを発現し、AT1Rは機械的ストレスとアンジオテンシンII結合を細胞内シグナルに変換し肥大分化を促進した。局所RASは高血圧症と変形性関節症を結びつける共通の分子機構である可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々は生活習慣病(MetS)と変形性膝関節症(OA)の進展には共通の分子機構があるとする、独創性の高い仮説を立てて研究を継続してきた。今回の研究では、局所RASがその役割を果たしている可能性が示された。すなわち、RASをターゲットとした包括的治療が高血圧症とOA両者の治療や進行抑制に有効である可能性がある。今回の研究でRASシグナルのブロックとして用いられたARBが軟骨変性の進行抑制薬としても有効である可能性があり、さらなる基礎研究の端緒となるかもしれない。また、本研究成果が超高齢社会に直面する我が国において健康寿命の延伸のための基礎となれば、その社会的意義は大きいと考える。

研究成果の概要(英文)：Using knee OA models induced by destabilization of the medial meniscus (C57/BL6 mouse) and forced running on a treadmill (Tsukuba hypertensive mouse), we investigated relationship between activation of the local renin-angiotensin system (RAS) and articular cartilage degeneration. Further, in order to elucidate function of AT1R expressed on chondrocytes, we examined effects of cyclic compressive loads and angiotensin II addition on cell differentiation using cultured bovine articular chondrocytes in three-dimensional agarose scaffolds. Articular chondrocytes in knee OA models expressed AT1R and AT2R associated with progression of cartilage degeneration. Cyclic compressive load and angiotensin II addition on chondrocytes transduced the intracellular signal through the G-protein-dependent pathway and enhance articular chondrocyte differentiation. These results suggest that the local RAS may be a common mechanism which can connect hypertension and OA.

研究分野：整形外科、変形性関節症の予防と治療、人工関節置換術

キーワード：ロコモティブシンドローム メタボリックシンドローム 変形性膝関節症 高血圧症 局所的レニン・アンジオテンシン系 関節軟骨変性 機械的ストレス 軟骨細胞肥大分化

1. 研究開始当初の背景

人口構造の超高齢化により増加の一途を辿る変形性関節症(OA)による関節機能障害の発生を抑制し、高齢者の健康寿命の延伸を図るためには、その病因・病態の解明、予防法・薬物治療の研究開発は重要な課題である。そこで、効果的な介入により OA 症例を減少させることは「新健康フロンティア戦略」の目標ともなっている。一方、メタボリックシンドローム(MetS)も著しく増加しており社会問題化している。我が国の ROAD study においても、MetS コンポーネントの集積は膝 OA の発症および進行のリスクとされ、MetS と膝 OA との間には共通の病因・病態があることが示唆されてきた。

MetS と膝 OA との間に存在する共通の病因・病態として、我々は高血圧症発症の一つの機序とされているレニン・アンジオテンシン系(RAS)に着目し、先行研究において我々は局所 RAS が軟骨細胞の肥大分化を調整する因子の一つであることを見出ししている。

2. 研究の目的

局所レニン・アンジオテンシン系が膝関節軟骨変性の進行に関与することを明らかにすること

3. 研究の方法

In-vivo での研究として、C57/BL6 マウス膝内側半月不安定化 OA (DMM) モデル、および、ヒトレニン・アンジオテニンノーゲン遺伝子導入つくば高血圧マウス (THM) のトレッドミル強制走行膝 OA モデルを用いて、膝関節軟骨変性の進行と AT1R・AT2R の発現状況を組織学的に検討する。In-vitro では、軟骨細胞上の AT1R 機能を解析するために、ウシ関節軟骨細胞の 3 次元培養を行う。まず、培養軟骨細胞の AT1R 発現を確認し、これに周期的圧迫負荷を加えた群、アンジオテンシン II 添加群、ARB 添加後に圧迫負荷を加えた群について、RT-PCR およびウェスタンブロットを用いて X 型コラーゲンおよび Runx2 発現を調べる。さらに、細胞内にシグナル経路を解析する。

4. 研究成果

In-vivo での研究では、DMM C57/BL6 マウスおよび強制走行 THM では経時的に軟骨変性スコアの上昇を認めた。同様に、経時的に AT1R・AT2R と X 型コラーゲン陽性細胞率の上昇を認めた。また、有意に AT1R 陽性細胞率および X 型コラーゲン陽性細胞率は上昇した。また、スコアと X 型コラーゲン陽性細胞/AT1R 陽性細胞は有意な正の相関を認めた。さらに、AT1R 陽性細胞率と X 型コラーゲン陽性細胞率の間に強い正の相関を認めた。コントロールのマウスでは AT1R・AT2R と X 型コラーゲンの発現は認めなかった。In-vitro では、アンジオテンシン II 添加および圧迫負荷により X 型コラーゲンおよび Runx2 発現は上昇し、ARB は圧迫負荷によるこの効果を抑制した。また、ARB は圧迫負荷による G 蛋白依存性シグナル伝達を抑制した。

以上より、軟骨組織に対する過剰な運動負荷が AT1R の発現を促し、また、局所性レニン・アンジオテンシン系 (RAS) の活性化は機械的ストレスによる軟骨変性を促進する可能性が示された。RAS は生活習慣病の一つである高血圧症と変形性関節症を結びつける共通の分子機構である可能性が示された。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計9件)

Yamagishi K, Tsukamoto I, Nakamura F, Hashimoto K, Ohtani K, Akagi M. Activation of the renin-angiotensin system in mice aggravates mechanical loading-induced knee osteoarthritis. *Eur J Histochem*, 査読有, Vol. 62, 2018, pp177-187

Hashimoto K, Oda Y, Yamagishi K, Tsukamoto I, Akagi M. LOX-1 deficient mice are resistant to zymosan-induced arthritis: A mini review. *J Immunol Sci*, 査読有, Vol. 2, 2018, pp40-45

Hashimoto K, Oda Y, Mori S, Yamagishi K, Tsukamoto I, Akagi M. Lectin-like, oxidized low-density lipoprotein receptor-1-deficient mice show resistance to age-related knee osteoarthritis: A mini review. *J Rare Dis Res Treat*, 査読有, Vol. 3, 2018, pp22-24

Hashimoto K, Nishimura S, Oka N, Kakinoki R, Akagi M. Possible involvement of cyclooxygenase-2 in the recurrence of desmoid fibromatosis: case series and mini-review of the literature. *Biochem Res*, 査読有, Vol. 29, 2018, pp2718-2721

Nakamura F, Tsukamoto I, Inoue S, Hashimoto K, Akagi M. Cyclic compressive loading activates type 1 receptor in articular chondrocytes and stimulates hypertrophic differentiation through a G-protein-dependent pathway. *FEBS Open Bio*, 査読有, Vol. 8, 2018, pp962-973

Nakamura F, Tsukamoto I, Inoue S, Hashimoto K, Akagi M. Cyclic compressive loading differentiation a G-protein-dependent pathway. *FEBS Open Bio*, 査読有, 2018, pp962-973,

Hashimoto K, Oda Y, Nakagawa K, Ikeda T, Ohtani K, Akagi M. LOX-1 deficient mice show resistance to zymosan-induced arthritis. *Eur J Histochem*, 査読有, Vol. 62, 2018, pp2847-2847

Hashimoto K, Oda Y, Nakamura F, Kakinoki R, Akagi M. Lectin-like, oxidized low-density lipoprotein receptor-1-deficient mice show resistance to age-related knee osteoarthritis. *Eur J Histochem*, 査読有, Vol. 61, 2017, pp.2762-2762
DOI: 4081/ejh.2017.2762

Hashimoto K, Mori S, Oda Y, Nakano A, Sawamura T, Akagi M. Lectin-like, oxidized low density lipoprotein receptor 1-deficient mice show resistance to instability-induced osteoarthritis. *Scand J Rheumatol*, 査読有, Vol. 45, 2016, pp412-422

〔学会発表〕(計11件)

森竹章公、河尾直之、石田昌義、岡田清孝、辰巳公平、松尾 理、梶 博史、赤木将男、PAI-1 はマウス軟骨細胞において IL-1 による軟骨基質分解に関与する、第 32 回日本軟骨代謝学会、2019 年

墳本一郎、中村文久、森竹章公、山岸孝太郎、中川晃一、井上紳司、赤木将男、関節軟骨細胞に発現する AT1 レセプターは周期的圧迫負荷により活性化され、軟骨肥大変性を促進する、第 46 回日本関節病学会、2018 年

山岸孝太郎、墳本一郎、中村文久、橋本和彦、赤木将男、レニン-アンギオテンシン系の活性化はメカニカルストレスによる膝変形性関節症を促進させる、第 131 回中部

日本整形外科災害外科学会、2018年

森竹章公、河尾直之、石田昌義、梶 博史、赤木將男、PAI-1 はマウス軟骨細胞における IL-1 による MMP 活性の増加に關与する、第 131 回中部日本整形外科災害外科学会、2018年

山岸孝太郎、墳本一郎、中村文久、橋本和彦、大谷和裕、赤木將男、レニン-アンギオテンシン系の活性化はマウスにおいてメカニカルストレスによる膝変形性關節症を促進させる、第 77 回近畿大学医学会學術講演会、2018年

森竹章公、河尾直之、石田昌義、岡田清孝、辰巳公平、松尾 理、梶 博史、赤木將男、PAI-1 欠損はマウス軟骨細胞における IL-1 による MMP 活性の増加を抑制する、第 31 回日本軟骨代謝学会、2018年

森竹章公、河尾直之、岡田清孝、辰巳公平、石田昌義、奥本勝美、松尾 理、梶 博史、赤木將男、マウス変形性膝關節症モデルにおける軟骨下骨に対する PAI-1 の役割、第 32 回日本整形外科学会基礎學術集会、2017年

森竹章公、河尾直之、岡田清孝、辰巳公平、石田昌義、奥本勝美、松尾 理、梶 博史、赤木將男、Plasminogen activator inhibitor-1(PAI-1)はマウス変形性膝關節症による軟骨下骨減少を抑制する、第 35 回日本骨代謝学会、2017年

橋本和彦、森 成志、小田 豊、奥本勝美、赤木將男、LOX-1 欠損マウスは Zymosaw 誘発性關節炎に抵抗性を示す、第 30 回日本軟骨代謝学会、2017年

橋本和彦、森 成志、小田 豊、奥本勝美、赤木將男、LOX-1 欠損マウスは關節炎に対して抵抗性を示す、第 31 回日本整形外科学会基礎學術集会、2016年

橋本和彦、森 成志、小田 豊、奥本勝美、中野厚史、沢村達也、赤木將男、LOX-1 欠損マウスは加齢制変形性膝關節症に対して抵抗性を示す、第 31 回日本整形外科学会基礎學術集会、2016年

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年：

国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6．研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：井上 紳司

ローマ字氏名：INOUE Shinji

所属研究機関名：近畿大学

部局名：医学部

職名：医学部講師

研究者番号（8桁）：10642879

研究分担者氏名：墳本 一郎

ローマ字氏名：TSUKAMOTO Ichiro

所属研究機関名：近畿大学

部局名：医学部

職名：助教

研究者番号（8桁）：20770051

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。