

令和 3 年 5 月 25 日現在

機関番号：35302

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09042

研究課題名（和文）12型コラーゲンによる変形性関節症の病態解明

研究課題名（英文）Elucidation of collagen XII regulatory role in osteoarthritis

研究代表者

伊豆 弥生（Izu, Yayoi）

岡山理科大学・獣医学部・准教授

研究者番号：90431949

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：変形性関節症は、関節軟骨の変性を主徴とし、疼痛と関節の可動域が減少することで日常動作を低下させることから、超高齢社会において克服すべき喫緊の課題である。本研究では、腱・靭帯で高発現する12型コラーゲンに着目し、腱・靭帯機能障害による変形性関節症発症への影響を検討し、12型コラーゲンが変形性関節症のリスクファクターとなる可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ロコモティブシンドロームの主要な疾患である変形性膝関節症は、2400万人もが罹患していると推測される誰もが罹患する可能性の高い疾患である。これまで変形性膝関節症病態では、障害を受ける関節軟骨の研究が盛んに行われてきたが、本研究は、関節の可動性を制御する靭帯に着目することで、膝関節の不安定性を制御することで、変形性関節症の治療法や予防法に役立てようとするものである。本研究により、12型コラーゲンが変形性関節症のリスクマーカーとなる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Osteoarthritis, which major symptom is degeneration of articular cartilage, evoke pain and decreases joint mobility that results in decreases activities of daily living, therefore it is an urgent issue to be overcome in a super-aging society.

In this study, we focused on collagen XII, which is highly expressed in tendons and ligaments, and investigate whether the impairment of tendons and ligaments caused by the lack of collagen XII influences on knee joint. Our data indicate the possibility of collagen XII as a risk factor for osteoarthritis.

研究分野：整形外科

キーワード：変形性膝関節症 前十字靭帯断裂 12型コラーゲン リスクファクター

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、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

変形性関節症は、関節軟骨の変性、消失を特徴とする疾患であり、日本では約 1000 万人、世界では約 2 億人の罹患者が報告されている。しかしながら、変形性関節症の発症メカニズムは解明されておらず、治療法は外科的手術に依存している。

ゲノムワイド関連解析 (GWAS) により、12 型コラーゲンが変形性関節症発症へ関与していることが明らかとなった。12 型コラーゲンは関節の過伸展および拘縮を主徴とする難治性疾患の原因として同定された (Zou and Izu et al. *Human Mol. Genet.* 2014.)。申請者らは *Coll2a1* 欠損マウスを作製し、ヒトの疾患と類似した症状を示すマウスモデルを見いだした (Izu et al. *J. Cell Biol.* 2011)。申請者らの予備実験から、*Coll2a1* 欠損マウスの歩行異常と膝関節の拘縮、前十字靭帯の断裂を認めたことから、変形性関節症発症に関与すると推測された。

2. 研究の目的

12 型コラーゲンの膝関節における機能を明らかにし、変形性膝関節症の病態発症に影響を与えるか検討する。

3. 研究の方法

(1) 膝関節の前十字靭帯断裂時期の同定と 12 型コラーゲン発現動態の解明

- ① *Coll2a1* 欠損マウスにおいて、前十字靭帯断裂時期を組織学的に同定する。
- ② 同定された時期における野生型および *Coll2a1* 欠損マウスの前十字靭帯、関節軟骨の遺伝子、並びに組織構造解析、運動量測定を行う。
- ③ 加齢による 12 型コラーゲンの発現動態を解析する

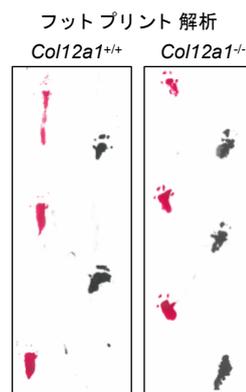
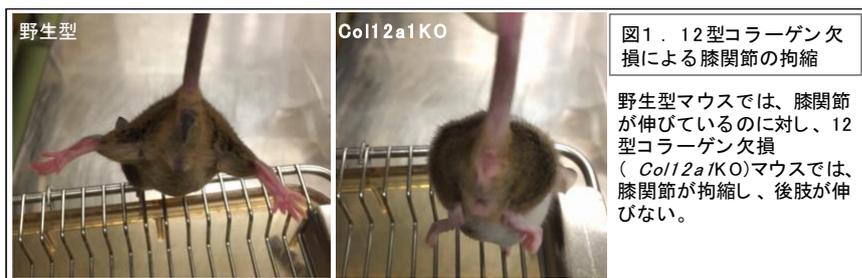
(2) 組織特異的 12 型コラーゲンの変形性関節症発症における役割

- ① 軟骨と靭帯のそれぞれの組織特異的マウスを作出し、機能解析を行う。

4. 研究成果

(1) 12 型コラーゲン欠損は歩行異常を来す

12 型コラーゲン欠損マウスは、膝の拘縮が見られたため、フットプリント解析による歩行解析を行なった。12 型コラーゲン遺伝子欠損マウスでは、フットプリントの角度が広く、膝関節に異常が生じていることが示唆された。



(2) 12 型コラーゲン欠損は前十字靭帯断裂を誘導する。

12 型コラーゲンの膝関節での機能を解明するために、サフラニン O—ファストグリーン染色により、組織学的解析を行なった。野生型では大腿骨と脛骨を結ぶ前十字靭帯が認められたが、12 型コラーゲン欠損マウスでは、関節内に前十字靭帯が認められるものの、一部が断裂し、骨同士を結合していなかった。一方、後十字靭帯は野生型、12 型コラーゲン欠損型ともに、関節内で骨同士を結合していた。統計学的解析を行なったところ、12 型コラーゲン欠損型で優位に前十字靭帯が断裂していた (図 2)。

	5-6 week-old	17 week-old
<i>Col12a1</i> ^{+/+}	0 %	0 %
<i>Col12a1</i> ^{-/-}	20 %	30 %

図2. 前十字靭帯断裂率

(3) 腱・靭帯における 12 型コラーゲンの発現解析

腱・靭帯における 12 型コラーゲンの発現解析を行なったところ、前十字靭帯 (ACL) 及びアキレス腱 (Achilles) とともに、加齢により減少する傾向にあることが示唆された。

(4) 組織特異的 12 型コラーゲン遺伝子欠損マウスの作成
12 型コラーゲンは関節軟骨にも発現していることから、変形性膝関節症を誘導するメカニズムにおいて、軟骨あるいは靭帯のどちらの 12 型コラーゲン機能が重要であるか、明らかにするために、軟骨あるいは靭帯特異的に 12 型コラーゲンを欠損させたマウスを作成し、解析を行う。

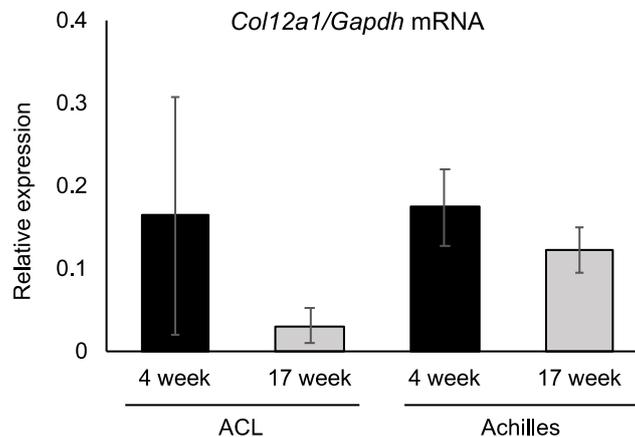


図3. 12型コラーゲンの遺伝子発現

12 型コラーゲン flox マウスは CRISPR-Cas9d で作成し、繁殖・維持を行なっている。今後、軟骨及び腱特異的 Cre マウスを導入し、組織特異的マウスを作成する予定である。

12 型コラーゲン flox マウスは CRISPR-Cas9d で作成し、繁殖・維持を行なっている。今後、軟骨及び腱特異的 Cre マウスを導入し、組織特異的マウスを作成する予定である。

以上の結果から、12 型コラーゲンは膝関節の前十字靭帯の脆弱性の制御に寄与することが示唆された。また、加齢に伴い、12 型コラーゲン発現が減少することから、靭帯の脆弱性の指標となるリスクマーカーとなる可能性が示唆された。今後、組織特異的遺伝子欠損マウスの解析を行い、更なるメカニズム解明を行う予定である。

<引用文献>

1. **Izu Y**, Sun M, Zwolanek D, Veit G, Williams V, Cha B, Jepsen KJ, Koch M, Birk DE. Type XII collagen regulates osteoblast polarity and communication during bone formation. **J. Cell. Biol.** 2011; 193(6):1115-1130
2. Zou Y, Zwolanek D, **Izu Y**, Gandhi S, Schreiber G *et al.* (19 名、以下省略) Recessive and dominant mutations in COL12A1 cause a novel EDS/myopathy overlap syndrome in humans and mice. **Hum Mol Genet.** 2014; 23 (9) 2339-2352

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Izu Y*, Adams SM, Connizzo BK, Beason DP, Soslowsky LJ, Koch M, Birk DB.	4. 巻 95
2. 論文標題 Collagen XII mediated cellular and extracellular mechanisms regulate establishment of tendon structure and function.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Matrix Biology	6. 最初と最後の頁 52-67
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.matbio.2020.10.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 福里晋、長尾雅史、伊豆弥生、金子和夫
2. 発表標題 膝前十字靭帯損傷における新たなリスク要因としてのVI型およびXII型コラーゲンの機能の解明
3. 学会等名 第92回日本整形外科学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shin Fukusato, Masashi Nagao, Kazuo Kaneko, Yayoi Izu
2. 発表標題 Collagen XII as a maintenance factor for anterior cruciate ligament
3. 学会等名 American Society for Bone and Mineral Research（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福里晋、長尾雅史、金子和夫、伊豆弥生
2. 発表標題 膝前十字靭帯損傷における新たなリスクなリスク要因としてのXII型コラーゲンの機能の解明
3. 学会等名 第37回日本骨代謝学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊豆 弥生
2. 発表標題 コラーゲン分子による運動器制御 ～ 6 型・12型コラーゲンの役割～
3. 学会等名 第53回日本実験動物技術者協会 in 松山
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福里晋、長尾雅史、杉殿晶、伊豆弥生
2. 発表標題 膝前十字靭帯損傷における新たなリスク要因としてのVI型、XIIコラーゲンの機能解明
3. 学会等名 第38回日本骨代謝学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>本研究成果は、骨代謝学会ホームページ1st Authorに取り上げられ、掲載中。</p>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	長尾 雅史 (Nagao Masashi)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
米国	University of South Florida			
ドイツ	University of Cologne			