

令和 4 年 5 月 17 日現在

機関番号：32607

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K18476

研究課題名(和文)前・初期変形性股関節症患者の疼痛発現メカニズムおよびその制御機構の解明

研究課題名(英文) Investigataion of pain mechanisms in early hip osteoarthritis

研究代表者

福島 健介 (Fukushima, Kensuke)

北里大学・医学部・講師

研究者番号：30383615

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：初期変形性股関節症(HOA)患者の痛みの病態は明らかになっていない。本研究では初期OAおよび進行期・末期HOA患者の滑膜組織を解析し、前初期HOA患者の病態を検討した。炎症性メディエーター(TNFA, IL1B, IL6, COX2)の発現は進行期・末期HOAにくらべ初期HOA患者で有意に高かった。さらに、CD14陽性サブセットを解析した結果、CD14強陽性細胞の割合は進行期・末期OAに比べ初期HOAで高く、CD14強陽性細胞は神経成長因子やカルシトニン遺伝子関連ペプチドなどの疼痛関連因子の発現が高かった。このことからマクロファージが前初期HOAの炎症・疼痛に関与している可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齢化にともない変形性股関節症患者は年々増加している。一方、単純X線画像上で明らかなOAを伴わない、あるいは軽度でありながら股関節痛を主訴とする若年、中高年の前股関節症・初期OA患者が存在する。股関節は人体最大の荷重関節であり、若年、中高年患者における股関節部の疼痛は生活の質、日常生活動作のみならず社会活動、スポーツ活動に大きな影響を及ぼす。本研究成果は前股関節症・初期OA患者の疼痛治療薬の開発に貢献できるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Elevation of inflammatory cytokines and pain-related molecules can contribute in pain and progression of hip osteoarthritis (HOA). Our aim was to compare synovial tissue inflammatory cytokine levels between patients with early and late-stage HOA. Synovial tissue was harvested from 106 hips from 100 subjects during hip surgery. TNFA, IL1B, IL6 and COX2 mRNA were compared among all patients using qPCR. The contribution of macrophages on pain-related molecules in early stage HOA were investigated. TNFA, IL1B, and COX2 expression in synovial tissue were significantly higher in patients with early-stage HOA than late-stage HOA. CD14 expression in early HOA significantly higher than that in late-stage HOA. In addition, CD14high subset expressing CGRP and NGF were increased in early HOA. Macrophages in early HOA may contribute to pain and OA progression.

研究分野：整形外科

キーワード：変形性股関節症 初期 マクロファージ 疼痛

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

高齢化にともない変形性股関節症患者は年々増加している。主たる愁訴である疼痛は高齢者患者の生活の質、日常生活動作を著しく低下させることから、軟骨変性が進行した進行期・末期の変形性股関節症の疼痛メカニズムの研究が多数行われてきた。一方、単純 X 線画像上で明らかな OA を伴わない、あるいは軽度でありながら股関節痛を主訴とする若年、中高年の前股関節症・初期 OA 患者が存在する。股関節は人体最大の荷重関節であり、若年、中高年患者における股関節部の疼痛は生活の質、日常生活動作のみならず社会活動、スポーツ活動に大きな影響を及ぼす。そのため、前股関節症・初期 OA 患者における疼痛の病態解明は極めて重要である。申請者等はこれまでにカルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) をはじめとする複数の神経ペプチドが末期変形性膝関節症の疼痛の病態に関与すること、また、これらの因子は炎症性サイトカインによって誘導されることを報告してきた。

2. 研究の目的

本研究の目的は前股関節症・初期 OA 患者における疼痛の病態を明らかにすることである。

3. 研究の方法

3-1. 前初期 HOA 患者の滑膜組織における炎症性サイトカイン発現の検討

股関節手術を施行した患者 (股関節鏡手術症例 32 例、人工股関節置換術 74 例) から採取した滑膜組織を研究に用いた。滑膜組織から total RNA を抽出後、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 の発現を検討した。リアルタイム PCR 法を用いて相対的 mRNA 発現レベルを検討した。Tönnis 分類 0,1 を前初期 HOA, 2,3 を進行期・末期 HOA として発現量を比較検討した。患者から滑膜細胞を採取し、炎症性サイトカインに対する滑膜細胞の反応性を検討した。滑膜細胞を TNF- α で刺激後、IL-1 β 、IL-6、COX-2 の発現を検討した。

3-2. 前初期 HOA 患者の滑膜組織におけるマクロファージサブセットの解析

滑膜マクロファージは炎症や疼痛に関与し得る。そこで前初期 HOA と進行期・末期 HOA 患者 (各 40 例) から採取した滑膜組織を採取し、M ϕ マーカー CD14 の発現を調査した。各 5 例で、フローサイトメトリーを行い両群における CD14 $^{+}$ 細胞のサブセット解析を行った。各 5 例で、サブセットをソーティングし、疼痛関連因子 nerve growth factor (NGF) と calcitonin gene-related peptide (CGRP) の発現を調査した。

4. 研究成果

4-1. 前初期 HOA 患者の滑膜組織における炎症性メディエータの発現

前初期 HOA 患者の滑膜組織における TNFA, IL1B, and COX2 mRNA の発現は進行期・末期 HOA 患者に比べ有意に高かった (TNFA, $p < 0.001$; IL1B, $p < 0.001$; COX2, $p = 0.001$; 図 1)。一方、IL-6 の発現に有意な差は認められなかった ($p = 0.078$)。

TNF- α 刺激後の滑膜細胞における IL-1B, COX-2, COX-6 の発現上昇は両群に認められた (図 2) しか、両群に有意な差は認められなかった。

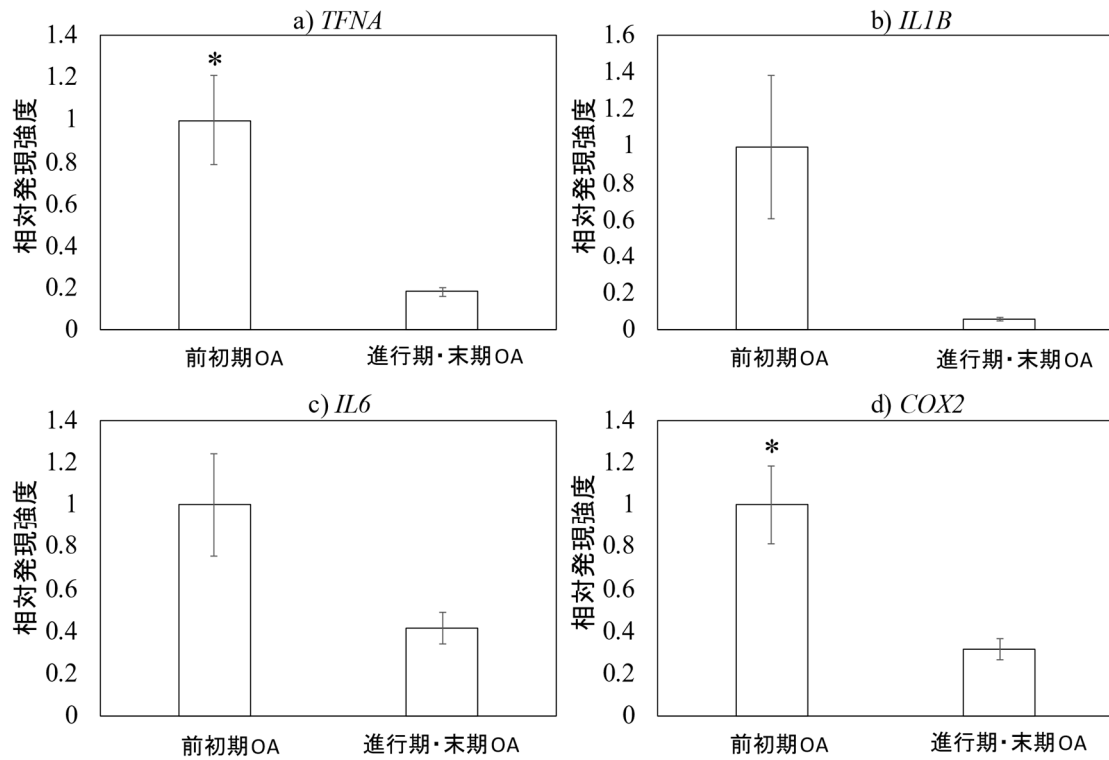


図1. 前初期 OA、進行期・末期 OA 患者の滑膜組織における炎症性メディエータの発現
a) *TNFA*, b) *IL1B*, c), *IL6*, d) *COX2*

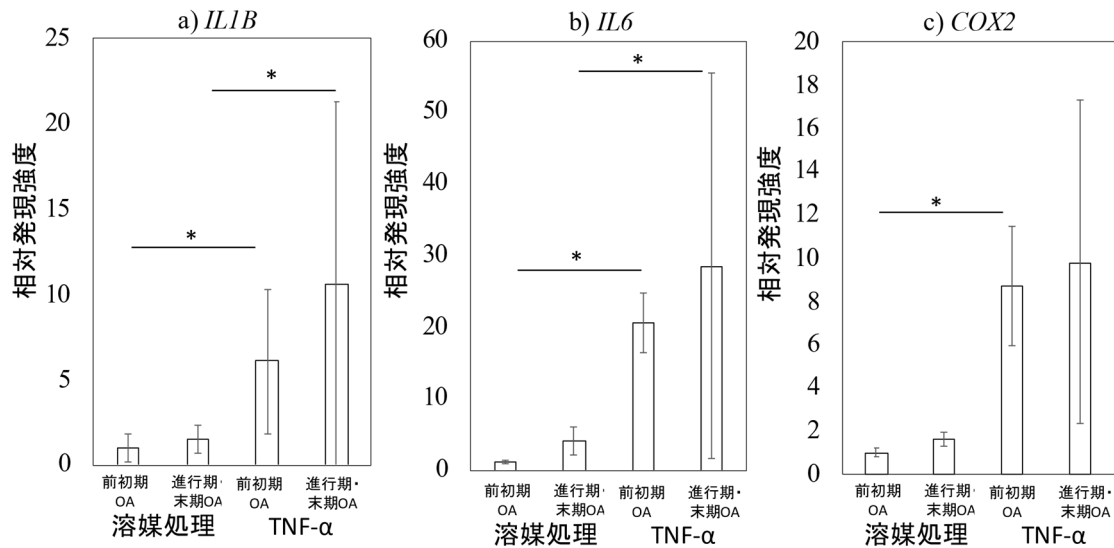


図2. 前初期 OA、進行期・末期 OA 患者の滑膜細胞に対する TNF- α の影響
a) *IL1B*, b), *IL6*, c) *COX2*

本研究結果から前初期 HOA 患者では進行期・末期 OA に比べ炎症性サイトカイン TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 の発現が上昇していることが明らかになった。一方、*in vitro* における TNF- α に対する滑膜細胞の反応は同等であったことから、前初期 OA における環境因子が炎症性サイトカインの上昇に関与している可能性が示唆された。炎症性サイトカインは MMPs, ADAMTSs などのマトリックス分解酵素の発現を誘導することから前初期 HOA 患者における炎症性サイトカインの上昇は HOA の発症進行に関与しているかもしれない。

4.2. 前初期 HOA 患者の滑膜組織におけるマクロファージの表現型

前初期 HOA における M ϕ マーカー CD14 の発現は、進行期・末期 HOA に比べ有意に高かった。前初期 HOA、進行期・末期 HOA の両方で、CD14 強陽性および CD14 弱陽性サブセットが認められた(図 3A,B)。前初期 HOA 群は進行期・末期 HOA 群と比較して CD14 強陽性サブセットの割合が有意に高かった(図 3C,D)。両群ともに CD14 強陽性細胞における NGF および CGRP の発現が CD14 弱陽性細胞と比較し、有意に高かった。CD14 強陽性細胞の増加は前初期 HOA 患者の疼痛発生に関与しているかもしれない。

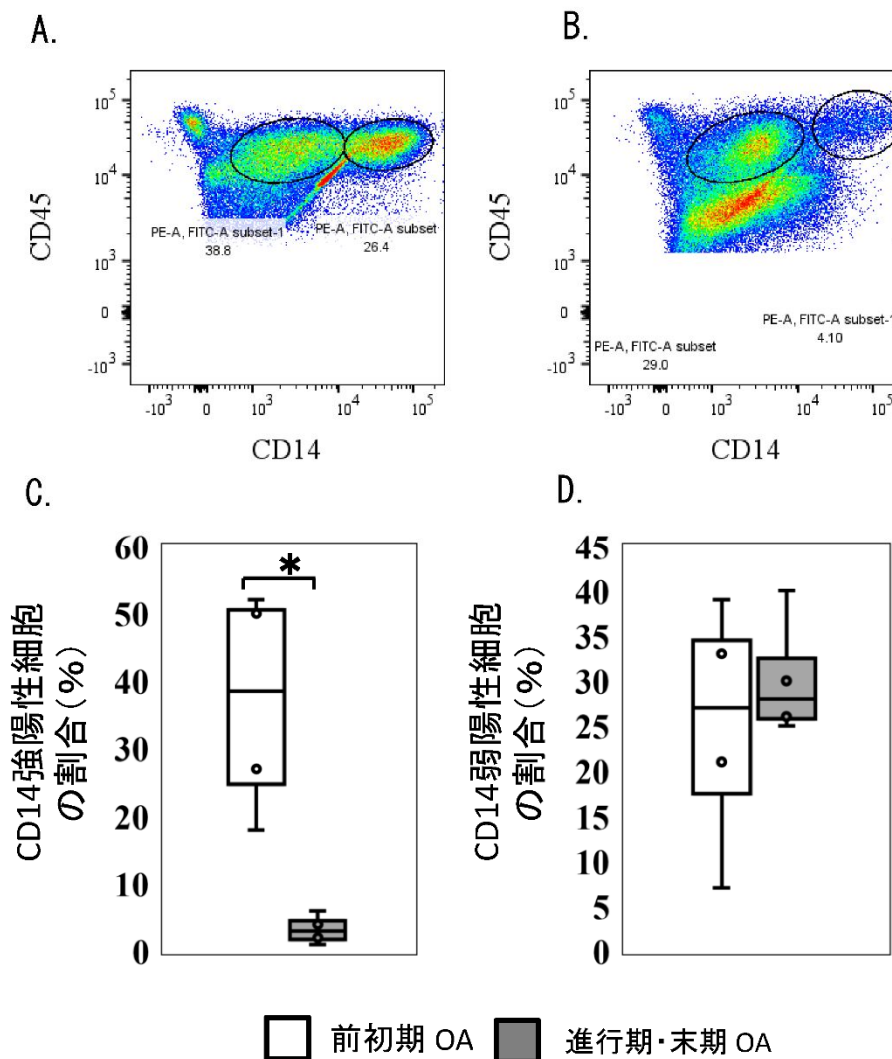


図 3. 前初期 OA、進行期・末期 OA 患者の滑膜組織における CD14 陽性サブセットの解析
A-B) 前初期 OA(A)、進行期・末期 OA(B) 患者の滑膜組織のドットプロット解析. X 軸 CD14, Y 軸は CD45. C-D) 滑膜組織における CD14 強陽性細胞 (C) と弱陽性細胞 (D) の割合

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Koyama T, Uchida K, Fukushima K, Ohashi Y, Uchiyama K, Inoue G, Takahira N, Takaso M	4. 巻 22
2. 論文標題 Elevated levels of TNF- α , IL-1 and IL-6 in the synovial tissue of patients with labral tear: a comparative study with hip osteoarthritis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BMC Musculoskelet Disord	6. 最初と最後の頁 33
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12891-020-03888-w	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 -
1. 著者名 Ohashi Y, Fukushima K, Inoue G, Uchida K, Koyama T, Tsuchiya M, Uchiyama K, Takahira N, Takaso M	4. 巻 21
2. 論文標題 Central sensitization inventory scores correlate with pain at rest in patients with hip osteoarthritis: a retrospective study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BMC Musculoskelet Disord	6. 最初と最後の頁 595
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12891-020-03630-6	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 -
1. 著者名 Zang J, Uchiyama K, Moriya M, Fukushima K, Takahira N, Takaso M	4. 巻 27
2. 論文標題 Long-term outcomes of Wagner self-locking stem with bone allograft for Paprosky type II and III bone defects in revision total hip arthroplasty: A mean 15.7-year follow-up	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Orthop Surg (Hong Kong)	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1177/2309499019854156	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 -
1. 著者名 Shibuya M, Nanri Y, Kamiya K, Fukushima K, Uchiyama K, Takahira N, Takaso M, Fukuda M, Matsunaga A.	4. 巻 21
2. 論文標題 The maximal gait speed is a simple and useful prognostic indicator for functional recovery after total hip arthroplasty	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BMC Musculoskelet Disord	6. 最初と最後の頁 84
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12891-020-3093-z	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 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 大橋 慶久、福島 健介、内田健太郎、小山 智久、内山 勝文、高平 尚伸、大貫裕子、井上玄、高相晶士
2. 発表標題 変形性股関節症患者におけるCD163と安静時痛の関連
3. 学会等名 第35回日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------