

令和 5 年 5 月 30 日現在

機関番号：32607

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K18073

研究課題名（和文）肥満患者の滑膜組織で増加する肥満細胞の変形性膝関節症病態への関与

研究課題名（英文）Contribution of Mast cells in pathology of obese osteoarthritis patients

研究代表者

高野 昇太郎（Takano, Shotaro）

北里大学・医学部・助教

研究者番号：10596505

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）：肥満は変形性関節症（OA）のリスクファクターであることが知られているが、その原因は十分に明らかになっていない。本研究では肥満細胞およびその産生因子に着目し、検討を行った。肥満OA患者の滑膜組織を解析した結果、トリプターゼ、IL-13、bFGFの亢進が認められた。トリプターゼは滑膜線維芽細胞、マクロファージにおける炎症性サイトカインの発現を増加させた。また、IL-13は滑膜線維芽細胞におけるbFGFの発現を増加させた。本研究結果から、滑膜組織への肥満細胞の動員と、肥満細胞による炎症惹起が肥満OA患者の病態に関与している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肥満変形性関節症患者の病態に肥満細胞およびその産生因子が関与することを示した。本研究結果は、2400万人を超える変形性関節症患者の新規治療法開発に貢献できると考えられる。

研究成果の概要（英文）： The mechanisms governing evidence that obesity is a risk factor for osteoarthritis (OA) are not well understood. This study investigated the expression of the -tryptase encoding gene, TPSB2, in the SM of obese patients with knee OA and -tryptase-mediated regulation of IL-1 in synovial cells.

A total of 216 patients radiographically diagnosed with knee OA were grouped according to the World Health Organization's body mass index (BMI) classifications: normal weight (NW), overweight (OW) and obese (OB). There was significantly elevated TPSB2 expression in the OW and OB groups compared to the NW group. The MC-rich fraction had significantly higher levels of TPSB2, CD117 and CD203c than the MC-poor fraction. Recombinant human -tryptase stimulated IL1B expression in both the synovial fibroblast and macrophage fractions. Obese patients with knee OA showed elevated TPSB2 expression in the SM. Tryptase may play a role in synovial inflammation in obese patients with OA.

研究分野：整形外科学

キーワード：変形性関節症 肥満 肥満細胞

## 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 OA 患者は年々増加している。近年の大規模な疫学調査から、我が国には OA 患者が 2400 万人存在することが明らかになった。OA は患者の生活の質、日常生活動作を著しく障害するため、健康寿命延伸には病態解明、治療法の確立が極めて重要である。これまでの疫学研究から肥満は荷重関節である膝の OA ばかりでなく、手などの非荷重関節の OA においても発症、進行のリスク因子であることが報告されている。申請者は滑膜組織中の免疫担当細胞が OA 発症・進行に関与する。肥満により滑膜組織中の免疫担当細胞に変化がもたらされるとの仮説の元、研究を展開してきた。その結果、肥満患者は非肥満患者に比して若年で末期 OA の病態を呈すること、滑膜組織において肥満細胞が増加することを見出した。しかし、肥満細胞の OA 病態に果たす役割は不明であった。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、OA 患者より採取した滑膜組織を用いて肥満細胞を介した OA 発症・進行および疼痛発生機序の解明を行うことである。

### 3. 研究の方法

KOA と診断された 216 名の患者を BMI (body mass index) に基づいて正常 (<25 kg/m<sup>2</sup>)、過体重 (25-29.99 kg/m<sup>2</sup>) および肥満 (≥30kg/m<sup>2</sup>) の 3 群に割り当てた。各群の滑膜における  $\alpha$ -tryptase 遺伝子 (TPSB2) の発現を Real time PCR を用いて比較検討した。また、MC における MC マーカーおよび MC 産生因子の発現を評価するため、10 例の膝 OA 患者の滑膜組織から MC を抽出した。滑膜組織を 2mg/mL の type I collagenase 溶液で 2 時間処理した。コラゲナーゼ処理後、抽出した細胞を、ビオチン結合 CD3 (T 細胞マーカー)、CD19 (B 細胞マーカー)、CD14 (マクロファージマーカー) および CD90 (線維芽細胞マーカー) 抗体と共に 4℃ で 30 分間培養した。PBS で 2 回洗浄した後、ストレプトアビジン結合磁性粒子に加え、磁気分離システムで MC-rich (CD3-CD14-CD19-CD90-) と MC-poor (CD3+, CD14+, CD19+, or CD90+) の分画に分離した。MC-rich 分画および MC-poor 分画における TPSB2 および MC 産生因子の発現を qPCR 解析で評価した。さらに、培養 CD14 陽性 (マクロファージ分画) および CD14 陰性 (線維芽細胞分画) を rh-chymase, rh- $\alpha$ -tryptase 存在下で刺激後、IL-1 の発現を検討した。また、rh-IL-13 の存在下で刺激後、bFGF の発現を検討した。

### 4. 研究成果

TPSB2, bFGF の発現は、正常群に比べ肥満群で有意に高かった (図 1)。一方、CMA1 の発現は 3 群間に有意な差は認められなかった。MC+分画における IL-13, TPSB2, CD117 および CD203c は MC-分画と比較して有意に高かった (図 2)。一方、IL1 の発現は MC-分画で有意に高かった。rh- $\alpha$ -tryptase 刺激により滑膜線維芽細胞とマクロファージ分画の IL1 発現が上昇した (図 3)。rh-chymase 刺激による IL1 の発現上昇は認められなかった。rh-IL-13 の存在下で滑膜線維芽細胞における bFGF の発現は亢進した (図 4)。

多くの研究で、膝 OA の発症と肥満との強い関連性が報告されている。本研究では、患者の 61% が過体重または肥満と見なされ、過体重、肥満群の年齢は、正常群よりも若い年齢で手術を受けており、BMI の増加が膝 OA の進行に関連していると考えられる。

BMI は、血清トリプターゼ濃度およびアレルギー性呼吸器疾患の症状の有病率と有意に相関している。本研究では、肥満 OA の患者でより高い TPSB2 発現レベルが観察された。さらに、滑膜組織から得られた細胞の MC 分画群で TPSB2 発現が観察された。したがって、OA 患者では、BMI の増加に伴い滑膜トリプターゼレベルが上昇する可能性がある。

MC は直接的に、あるいは、マクロファージなどのいくつかの細胞と相互作用し IL-1 発現を誘導することが報告されている。本研究では、IL1B の発現は非 MC 分画群に比べ、MC 分画群では有意に低値であった。しかし、 $\alpha$ -トリプターゼは滑膜線維芽細胞およびマクロファージにおける IL1B 発現を誘発した。したがって、肥満 OA 患者において MC から産生されたトリプターゼは滑膜線維芽細胞およびマクロファージを活性化して滑膜炎に間接的に関与している可能性がある。また、肥満 OA 患者の滑膜組織では軟骨破壊や滑膜の線維化に寄与する bFGF の発現が亢進していた。本研究結果から、肥満細胞由来の IL-13 が線維芽細胞に作用することによって bFGF の発現が亢進する可能性が示された。肥満細胞由来のトリプターゼや IL-13 は肥満 OA 患者の病態に関与している可能性が示唆された。

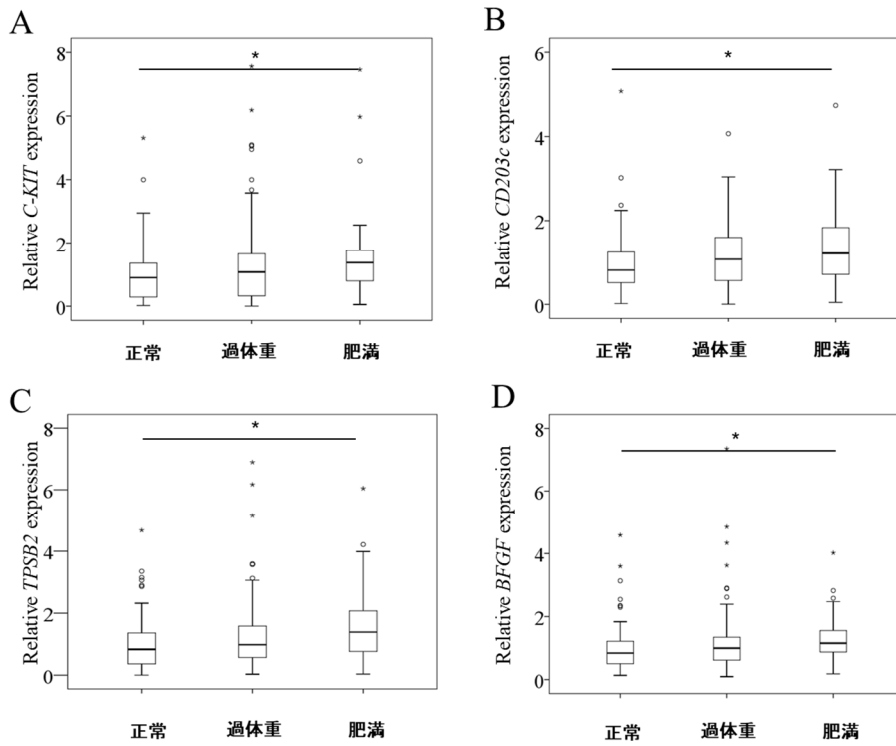


図 1. 正常、過体重、肥満変形性関節症患者の滑膜組織における肥満細胞マーカー (c-kit, CD203c, TPSB2), bFGF の発現

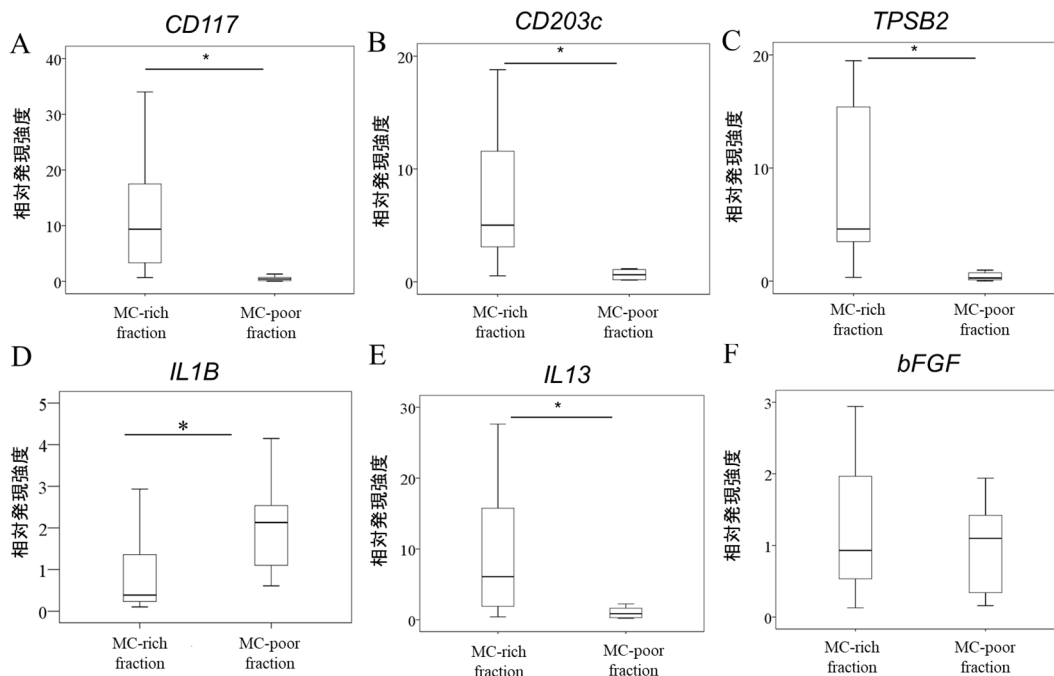


図 2. 肥満細胞分画 (MC-rich fraction)、非肥満細胞分画 (MC-poor fraction) における遺伝子発現

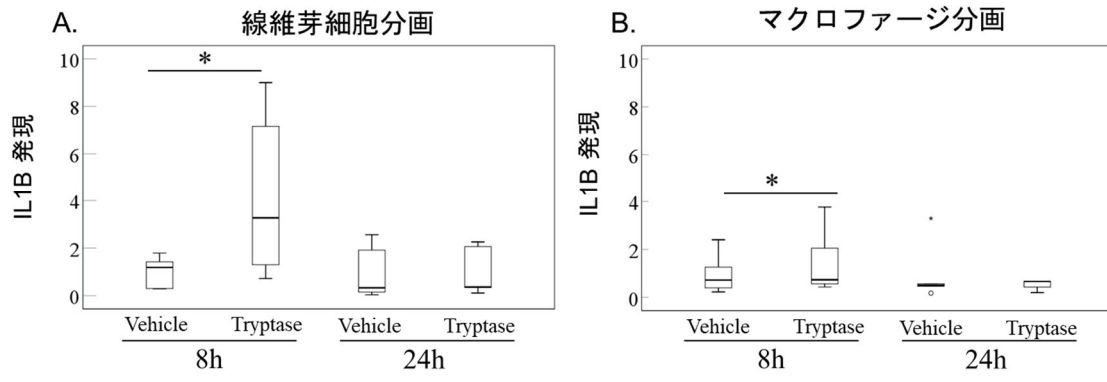


図3. 滑膜線維芽細胞、マクロファージの IL1B 発現に対する Tryptase の影響

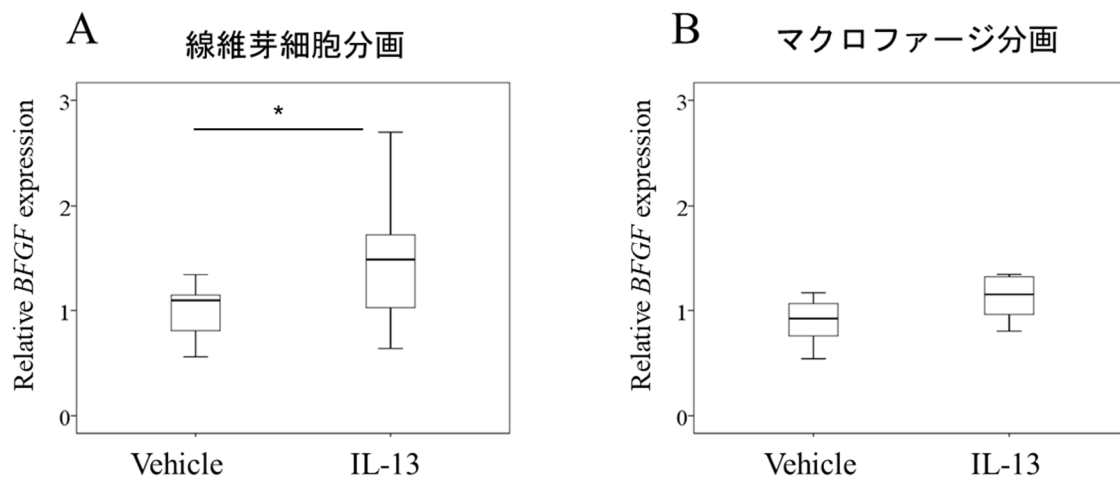


図4. 滑膜線維芽細胞、マクロファージの BFGF 発現に対する IL-13 の影響

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Takata K, Uchida K, Takano S, Mukai M, Inoue G, Sekiguchi H, Aikawa J, Miyagi M, Iwase D, Takaso M	4. 巻 14
2. 論文標題 Possible Regulation of bFGF Expression by Mast Cells in Osteoarthritis Patients with Obesity: A Cross-Sectional Study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Diabetes Metab Syndr Obes	6. 最初と最後の頁 3291-3297
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2147/DMSO.S319537	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takata K, Uchida K, Mukai M, Takano S, Aikawa J, Iwase D, Sekiguchi H, Miyagi M, Inoue G, Takaso M	4. 巻 13
2. 論文標題 Increase in Tryptase and Its Role in the Synovial Membrane of Overweight and Obese Patients with Osteoarthritis of the Knee	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Diabetes Metab Syndr Obes	6. 最初と最後の頁 1491-1497
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2147/DMSO.S253147	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 高野昇太郎、内田健太郎、高田研、迎 学、相川 淳、岩瀬大、井上玄、高相晶士
2. 発表標題 変形性膝関節症の滑膜組織におけるAdrenomedullinと肥満細胞との関連性の検討
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
---------	---------