

機関番号 : 82710

研究種目 : 若手研究 (B)

研究期間 : 2009~2010

課題番号 : 21791426

研究課題名 (和文) 血管内皮細胞増殖因子を主軸とした変形性関節症の発生、進行機序の解明

研究課題名 (英文) Investigation on the significance of vascular endothelial growth factor-A in the pathology of osteoarthritis.

研究代表者 田中 こなぎ

(KONAGI TANAKA)

独立行政法人国立病院機構 (相模原病院臨床研究センター)

病態総合研究部・研究員

研究者番号 : 00393025

研究成果の概要 (和文) :

臨床的な知見及び軟骨における遺伝子発現の解析から変形性関節症 (OA) の病態に血管内皮細胞増殖因子 A (VEGF-A) の関与が疑われたため、OA の病態にこの因子がどの程度関与しているかを明らかにする目的で本研究を行った。関節軟骨に日常生活において加わるのと同程度の荷重 (1 MPa) を繰り返して加えることで、対照軟骨からは遊離が見られないが、OA 軟骨からは軟骨変性の程度に応じて VEGF-A が遊離することが確認された。これが OA における滑膜病変の一因ではないかと考えられたため、OA 関節および剖検例から採取した滑膜組織の解析を行った。しかし OA 関節から得られた滑膜組織での遺伝子発現の定量的解析の結果、VEGF-A が作用したと考えられる遺伝子発現の変化は観察されず、OA において軟骨からは荷重によって VEGF-A が遊離されるものの、これが滑膜の病変に関与する程度は限定的であり、滑膜病変の主因とはならないと結論された。

研究成果の概要 (英文) :

The result of gene expression analysis in cartilage and clinical experience suggested possible involvement of VEGF-A in the pathology of osteoarthritis (OA). This study was conducted to examine the possibility of the involvement of VEGF-A in the synovial change observed with the disease. I first performed compression experiments with cartilage tissues. For this, cartilage tissues were obtained from OA and control knee joints, and compressive force was given to the tissues repeatedly to simulate weight bearing situation in the actual daily activities. The amount of pressure was adjusted to the level that cartilage tissues undergo in level walking (1 MPa). The result of this experiment revealed that cartilage tissues from OA knees release considerable amounts of VEGF-A upon physiological levels of compression. The amount of VEGF-A released from the tissue was significantly related to the severity of degeneration. Since this result suggested possible involvement of VEGF-A in the synovial changes occurs within OA joints, gene expression analysis was conducted with OA synovium. For this, synovial tissues were obtained from end-stage OA knees, and the levels of gene expression related to VEGF-A were determined by qPCR. However, the result of this analysis did not support our hypothesis that VEGF-A released from cartilage tissues induces synovial change. Thus, from the result of this study, it was concluded that VEGF-A might be released from degenerated cartilage, but it does not play a significant role in the pathology of OA, at least in terms of synovial pathology.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科学臨床医学系

キーワード：変形性関節症、血管内皮細胞増殖因子

### 1. 研究開始当初の背景

変形性関節症（OA）では水腫が見られることがしばしばであるが、その成因は不明である。一方血管内皮細胞増殖因子A（VEGF-A）は強力な血管新生作用を持つとともに血管透過性を亢進させる作用を持ち、その作用はヒスタミンの実に10000倍以上であるとされる。またOA軟骨ではVEGF-Aの発現が亢進しているとする報告もある。これらの事実からOAの病態にVEGF-Aが関与している可能性が推察される。これらの背景から本研究では膝OAにおいてVEGF-Aが病態にどの程度関与しているかを、主に滑膜病変について検討した。

### 2. 研究の目的

本研究では実際の症例において査業や歩行、運動などの後でOAが悪化することを考慮し、軟骨から荷重によってVEGF-Aが実際に放出されるかを検討し、さらに滑膜においてVEGF-Aが作用したことに対応する遺伝子発現の変化が見られるかを検討した。

### 2. 研究の方法

剖検例のOAに罹患していない膝関節から対照軟骨を採取し、人工関節置換の際に末期OA関節からOA軟骨を採取した。軟骨に単位面積当たり1MPaの荷重を加え（図1）、遊離したVEGF-Aの量をELISAで計測した。末期OA軟骨から滑膜組織を採取し、VEGF-Aが作用した時に上昇する因子について遺伝子発現の上昇が見られるかを検討し

た。

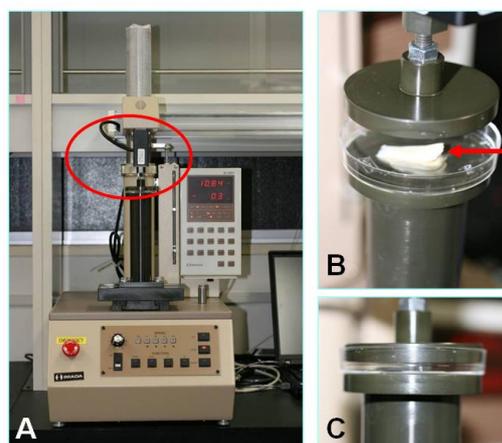


図1. 軟骨組織への定量的な荷重実験に用いた力学試験機. 力学試験機の全体（A）および赤い囲みで示した荷重部の接写（BおよびC）を示す。荷重の経した軟骨組織をBに赤矢印で示す。

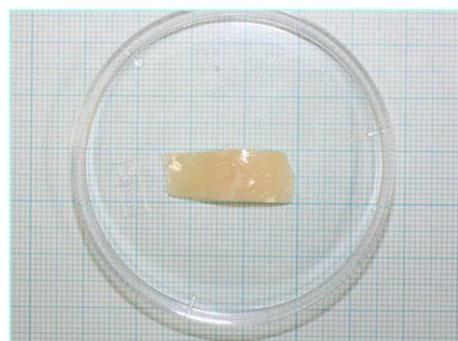


図2. 荷重実験に用いた軟骨組織片。組織は質量を計測したうえで面積に応じた荷重を加えた。

### 3. 研究成果

関節軟骨に上記の荷重を加えたことによってOA軟骨からは相当の量のELISAが放出されたのに対し、対照軟骨からは少量のVEGF-Aが放出されたのみであった。この結果からOA関節では変性軟骨から立位や歩行などによって軟骨から相当量のVEGF-Aが放出されると考えられた(図3)。

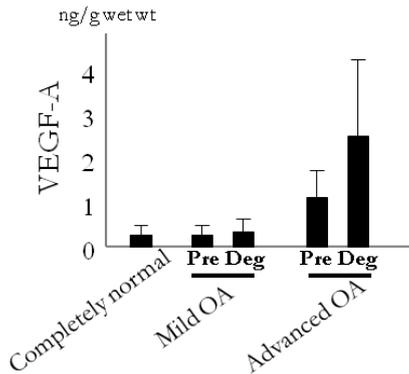


図3. 軟骨組織への荷重によって軟骨組織から遊離したVEGF-Aの量。軟骨組織の湿重量により標準化した値を示す。この実験では剖検例から採取した軟骨を肉眼的に変性所見のほとんど見られないもの(Completely normal)、軽度の変性所見があるもの(Mild OA)に分け、結果を末期OA軟骨から採取した軟骨(Advanced OA)と比較した。Pre, Degはそれぞれ軟骨の肉眼的な非変性部、変性部を示す。

次にOA関節から採取した滑膜と剖検例から際した対照滑膜においてVEGF-Aが作用した結果発現すると考えられるurokinase、MMP-2、MMP-9、MMP-14の発現を検討した。その結果、これらの発現はOA滑膜では上昇する傾向があるものの、個体差が大きく有意の上昇傾向が見られないものもあること(図4)、さらにOAの症例間で比較したところ、これらの遺伝子の発現レベルには相関関係が見られないことが明らかになった。

これらの結果からOAでは確かに変性軟骨からVEGF-Aが放出されると考えられるものの、少なくとも滑膜に関する限り放出されたVEGF-Aが持つ意義は限定的で、OAにおける滑膜病変に深く関与しているとは言えないことが明らかになった。

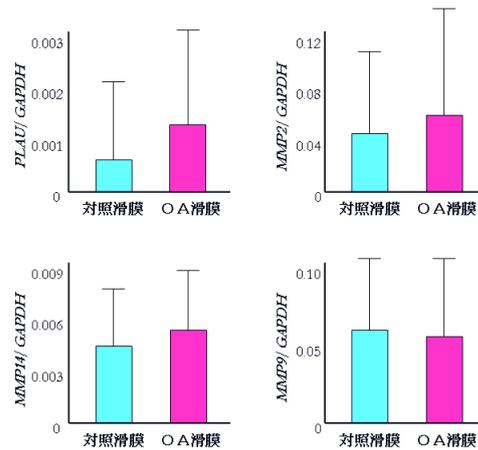


図4. OAおよび対照滑膜におけるurokinase、(PLAU)、MMP-2 (MMP2)、MMP-9 (MMP9)、MMP-14 (MMP14)の発現レベル。qPCRによる解析結果を示す。N = 8-12。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

1. Fukui N, Yamane S, Ishida S, Tanaka K, Masuda R, Tanaka N, Katsuragawa Y, Fukui S. Relationship between radiographic changes and symptoms or physical examination findings in subjects with symptomatic medial knee osteoarthritis: a three-year prospective study. *BMC Musculoskelet Disord* 11:269-, 2010.

[学会発表] (計4件)

1. 福井尚志、山根昌治、田中信帆、増田理亜子、増田公男、田中こなぎ、東成一、十字琢夫、森俊仁、桂川陽三. 内側型膝OAの進行過程—保存的治療例におけるレントゲン、愁訴、臨床所見の経時的変化—。第1回日本関節鏡・膝・スポーツ整形外科学会。2009.6.25-27、札幌。
2. 福井尚志、山根昌治、田中信帆、増田理亜子、田中こなぎ、東成一、十字琢夫、桂川陽三、森俊仁. 内側型変形性膝関節症の進行過程—X-pと愁訴、臨床所見の関連の検討—。第83回日本整形外科学会学術総会。2010.5.27-30、東京。

3. 福井尚志、山根昌治、田中信帆、増田理亜子、田中こなぎ、十字琢夫、森 俊仁、桂川陽三. 内側型変形性膝関節症の進行過程 —保存療法例におけるレントゲン、愁訴、臨床所見の関連—. 第二回日本関節鏡・膝・スポーツ整形外科学会学術集会. 2010. 7. 2-4、沖縄.
  
4. Naoshi Fukui, Shoji Yamane, Nobuho Tanaka, Riako Masuda, Konagi Tanaka, Sei-ichi Azuma, Kimio Masuda, Takuo Juji, Toshihito Mori, Yozo Katsuragawa. Progression of symptomatic medial knee osteoarthritis. Relationship between radiographic changes and symptoms. over a 3-year period. 第 2 回日本関節鏡・膝・スポーツ整形外科学会 ( 2nd JOSKAS ) / 第 2 回 JOSKAS セミナー / 第 7 回アジア・オセアニア整形外科スポーツ医学会 ( 7th APOSSM ) 2010. 7. 2-4、沖縄.

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者 田中 こなぎ  
(KONAGI TANAKA)

独立行政法人国立病院機構 (相模原病院臨床研究センター) 病態総合研究部・研究員

研究者番号 : 00393025