

平成 30 年 6 月 12 日現在

機関番号：12602

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K15541

研究課題名(和文)尿酸代謝経路を標的とした変形性関節症の新規治療戦略の構築

研究課題名(英文)The role of xanthin oxydase in the etiology of osteoarthritis

研究代表者

麻生 義則 (ASOU, Yoshinori)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・寄附講座准教授

研究者番号：50345279

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：メタボリックシンドロームにおいて変形性関節症(OA)発症率は尿酸濃度と相関する。我々は、マウス高脂肪食モデルを用いて、高脂肪食によって誘導される変形性膝関節症に対して、キサンチンオキシダーゼ(XOR)阻害剤投与が予防効果を持つことを示した。C57BL6Jマウスに高脂肪食を与え、半数にXOR阻害剤のフェブキソスタット(FEB)を飲水投与した。その結果、高脂肪食負荷によって進行する骨棘形成、滑膜増殖、関節軟骨のOA変化は、FEB投与によって軽減した。膝蓋下脂肪体の炎症はHFD群にて悪化した。FEB投与によって抑制された。以上の結果から、XORがOA制御の新たなターゲットとなる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：A metabolic syndrome (MetS) is accompanied by hyperuricemia, during which xanthine oxidoreductase (XOR) catalyzes the production of uric acid. In the cohort study, a correlation between uric acid concentration in the synovial fluid and osteoarthritis (OA) incidence is observed. The purpose of our study was to elucidate XOR function in terms of correlation between MetS and OA. Mice were fed normal diet (ND) or high fat diet (HFD) with or without febuxostat (FEB), a XOR inhibitor. HFD stimulated XOR activity in the IPFP and the visceral fat. OA changes had progressed due to HFD, but these changes were reduced upon FEB administration. IL-1 expression in the HFD group was increased in accordance with the enhancement of NLRP3 or iNOS expression in the infrapatellar fat pad (IPFP), whereas it was inhibited by FEB administration. Based on the above results, we showed that inflammasome activation accompanied by an increase in XOR activity contributed to IFP inflammation.

研究分野：分子生物学

キーワード：変形性関節症 メタボリックシンドローム 尿酸 キサンチンオキシダーゼ

1. 研究開始当初の背景

【肥満と尿酸代謝と酸化ストレス】 肥満は変形性関節症の危険因子である。メタボリックシンドロームは高尿酸血症を伴うが、尿酸は、キサンチンやヒポキサンチンのようなオキシプリンからキサンチンオキシダーゼによって合成され血中で体内を循環する。痛風患者に心血管疾患が多いことは半世紀以上前から知られているが、血管内皮細胞では活性酸素を介した異常な炎症反応がキサンチンオキシダーゼによって惹起される (Gryglewski RJ ら 1986、Doehner W ら 2002) 。【OA と尿酸濃度の相関】 血中、あるいは関節液中の尿酸濃度と OA 発生率の相関を示す報告がある。尿酸コホートスタディでは、関節液中の尿酸濃度と IL-18 濃度は正の相関を示し、これらの濃度は変形性関節症の進行度と正の相関を示した (Denoble ら、2011) 。また、股関節か膝の人工関節手術を受けた 809 人の患者を対象とした研究では、全身的な OA の発生と血中尿酸値は相関した (Sun ら 2000) 。

【高脂肪食誘導性変形性関節症モデルの作出】 メタボリックシンドロームに伴う変形性関節症モデルとして、研究代表者の麻生らは、C57BL/6J マウスに高脂肪食を与えることによって給餌開始後 2 カ月以降に変形性関節症を惹起することに成功した。高脂肪食負荷下では、関節変形に伴って膝蓋下脂肪体が肥大化し、アディポカインや炎症性サイトカイン発現亢進に伴い、血管新生、炎症細胞浸潤などの炎症反応が認められる。最近我々は高脂肪食負荷マウスに対して尾椎懸垂を行い、肥満による体重増加に伴う膝関節に対する力学的負荷の増加がなくても、肥大化した膝蓋下脂肪体が、独立して変形性関節症発症に直接寄与することを明らかにした (麻生ら PLoS ONE 2013) 。XOR は新規脂肪分化制御因子としても同定され、XOR は C/EBPbeta の下流、PPARgamma の上流に位置することから (Cheung, K. J. ら 2007) 、膝蓋下脂肪体代謝を介して変形性関節症の病態に関与する可能性がある。

2. 研究の目的

本研究の目的は、高脂肪食負荷変形性関節症モデルを用いて、メタボリックシンドロームと変形性関節症の関連におけるキサンチンオキシダーゼの機能を解明することである。

3. 研究の方法

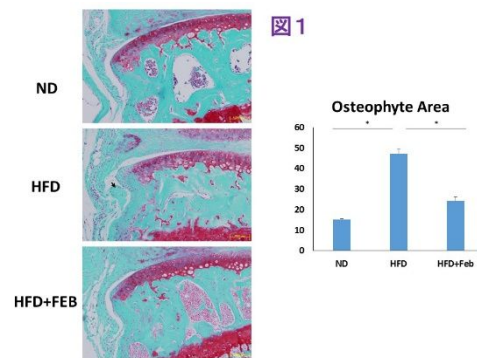
生後 7 週雄 C57BL6J マウスを通常食群、高脂肪食負荷群に分類した。それぞれ半数にキサンチンオキシダーゼ阻害剤のフェブキソスタット 1 μ g/g を飲水投与した。飼養開始後 3 カ月後に屠殺し、膝関節の組織解析を行った。膝蓋下脂肪体を採取し qPCR にて IL-1、NLRP3、iNOS の発現を解析した。膝蓋下脂

肪体の器官培養を行い、インスリン刺激下で FEB を作用させ、培養上清中の IL-1 と NLRP3 濃度を ELISA 法により測定した。

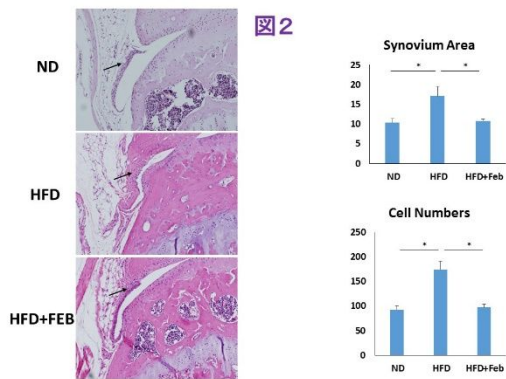
4. 研究成果

【結果】

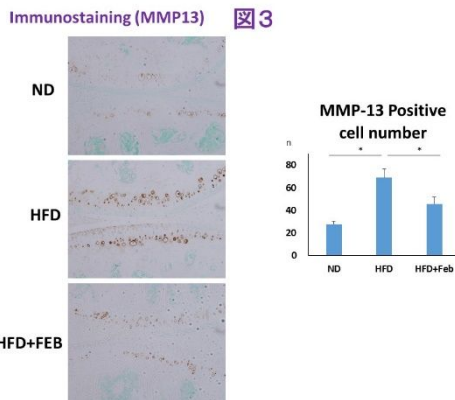
高脂肪食負荷によりマウスの体重は約 20% 増加したが、高脂肪食負荷マウスに対するフェブキソスタット投与は体重増加に影響を与えなかった。膝関節では、高脂肪食負荷により骨棘形成、滑膜増殖、関節軟骨表面の不整などの変形性関節症変化は進行したが、フェブキソスタット投与によってこれらの変化は優位に軽減した。変形性関節症マーカーの MMP-13 発現は、高脂肪食負荷群において増加したが、フェブキソスタット投与によって抑制された (図 1 ~ 3) 。



[図 1 脛骨前方の骨棘面積は、高脂肪食負荷群にて増加したが、フェブキソスタット投与により抑制された。]



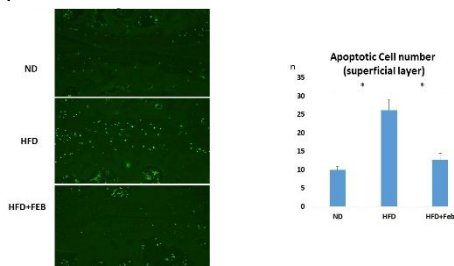
[図 2 膝関節前方の滑膜面積、滑膜細胞数は、高脂肪食負荷群において増加したが、フェブキソスタット投与によって抑制された。]



[図3 抗MMP-13抗体による免疫染色。MMP13陽性細胞数は高脂肪食負荷群において増加したが、フェブキソスタットによって抑制された。]

TUNEL 染色では高脂肪食負荷群においてTUNEL 陽性細胞が増加したがフェブキソスタット投与により著しく減少した。つまり、高脂肪食負荷刺激によって増加した軟骨細胞のアポトーシス増加は、フェブキソスタット投与によって予防された。

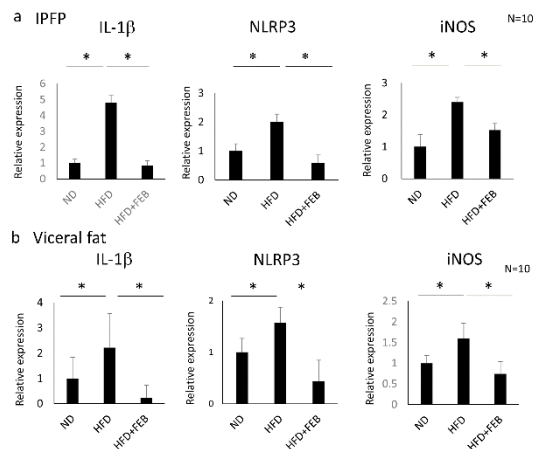
図4



[図4 TUNEL 染色 膝関節軟骨表層でのTUNEL 陽性細胞は高脂肪食負荷群で増加したが、フェブキソスタットによって抑制された。]

高脂肪食負荷下において、膝蓋下脂肪体は炎症性サイトカインを分泌し、変形性膝関節症の進行を促進する。膝蓋下脂肪体におけるキサンチンオキシダーゼの機能を検証するために、3群のマウスから膝蓋下脂肪体を採取し、qPCR法を行った。その結果、IL-1、iNOSの発現が高脂肪食負荷群にて増加したが、フェブキソスタット投与によって抑制された。

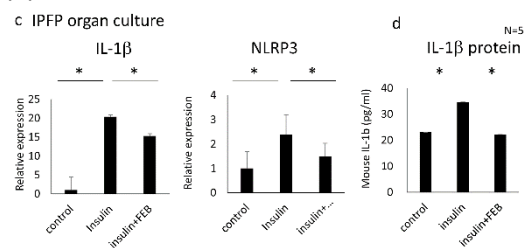
図5



[図5 膝蓋下脂肪体のqPCR解析 IL-1、NLRP3、iNOSの発現は高脂肪食負荷群で増加したが、フェブキソスタット投与はこれを予防した。]

これらの反応はインフラマソームのマーカーであるNLRP3の動向と並行していた。膝蓋下脂肪体の器官培養を行い、インスリン刺激を行ったところ、培養上清中のIL-1は増加したが、フェブキソスタット投与によって抑制された。

図6



[図6 膝蓋下脂肪体の器官培養 インスリン刺激により膝蓋下脂肪体のIL-1、NLRP3 mRNAは増加したがフェブキソスタット処理はこれを抑制した。インスリン刺激により上清中IL-1蛋白濃度は上昇したが、フェブキソスタット刺激はこれを抑制した。]

【考察と結論】

膝蓋下脂肪体の炎症は変形性膝関節症発症を惹起する。高脂肪食負荷によって惹起された膝蓋下脂肪体の炎症がフェブキソスタットによって予防されたことから、メタボリックシンドロームに伴う膝蓋下脂肪体の炎症は、キサンチンオキシダーゼ活性増加によるインフラマソーム活性亢進、活性酸素増加が寄与しているものと考えられる。本研究によって、キサンチンオキシダーゼが変形性膝関節症制御の新たなターゲットとなる可能性が示唆された。

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 4 件)

Xanthine oxidoreductase activation is implicated in the onset of metabolic arthritis. Aibibula Z, Ailixiding M, Iwata M, Piao J, Hara Y, Okawa A, **Asou Y**. Biochem Biophys Res Commun. 2016 Mar 25;472(1):26-32. 査読有り

Limited significance of screening computed tomography after cementless total hip arthroplasty with highly cross-linked polyethylene at 7-10 years of follow-up. Takada R, Jinno T, Koga D, Yamauchi Y, **Asou Y**, Muneta T, Okawa A. Mod Rheumatol. 2016 Sep;26(5):757-60. 査読有り

Pleiotropic Functions of High Fat Diet in the Etiology of Osteoarthritis. **Asou Y**, Iwata M, Ochi H, Ailixiding M, Aibibula Z, Piao J, Jin G, Hara Y, Okawa A. PLoS One. 2016 Sep 9;11(9):e0162794. 査読有り

Intraoperative evaluation of the effects of femoral component offset and head size on joint stability in total hip arthroplasty. Jinno T, Koga D, **Asou Y**, Morita S, Okawa A, Muneta T. J Orthop Surg (Hong Kong). 2017 Jan 1;25(1):2309499016684298. 査読有り

〔学会発表〕(計 6 件)

メタボリック OA におけるキサンチンオキシダーゼの機能解析 Zulipiya Aibibula, Maierhaba Ailixiding, 朴金瑛, 古賀 大介, 大川 淳, **麻生 義則** 2015 年 7 月 骨関節フォーラム

高脂肪食誘導性変形性膝関節症におけるキサンチンオキシダーゼ(XOR)の機能解析 Zulipiya Aibibula, Maierhaba Ailixiding, 朴金瑛, 金光文, 古賀大介, 大川 淳, **麻生 義則** 2016 年 10 月 日本整形外科学会基礎学会

高脂肪食負荷による膝蓋下脂肪体肥大化は力学的負荷とは独立して変形性膝関節症を惹起する 岩田宗峻, 越智 広樹, 原 康, 古賀 大介, 大川 淳, **麻生 義則** 2014 年 10 月 日本整形外科学会基礎学会

前方進入法と前側方進入法による人工股関節全置換術後早期 CT における股関節外転筋断面積の比較検討 高田 亮平, 神野 哲也, 古賀 大介, 平尾 昌之, 星野 ちさと, **麻生 義則**, 森田 定雄, 宗田 大, 大川 淳 2015 年 5 月 日本整形外科学会

セメントレス人工股関節全置換術後の大腿骨脆弱性骨折 平尾 昌之, 神野 哲也, 古賀 大介, 高田 亮平, **麻生 義則**, 森田 定雄, 宗田 大, 大川 淳 2015 年 5 月 日本整形外科学会

人工股関節全置換術におけるトラネキサム酸静脈内投与の効果と凝固線溶系に与える影響 平尾 昌之, 神野 哲也, 古賀大介, 高田 亮平, 瀬川 裕子, 星野 ちさと, **麻生 義則**, 森田 定雄, 宗田 大, 大川 淳 2015 年 10 月 日本股関節学会

6 . 研究組織

(1)研究代表者

麻生 義則 (ASOU, Yoshinori)
東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・寄附講座准教授
研究者番号：50345279