

令和 5 年 6 月 11 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：19K18523

研究課題名(和文)変形性膝関節症の慢性疼痛化に対する疾患特異的マクロファージの作用の解明とその制御

研究課題名(英文)Elucidation and regulation of the action of disease-specific macrophages on chronic pain in osteoarthritis of the knee

研究代表者

星野 傑 (Hoshino, Takashi)

東京医科歯科大学・東京医科歯科大学病院・助教

研究者番号：70836923

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)：ラットの膝にモノヨード酢酸を1.0mg投与して細胞動態を調べた。細胞は浸潤と増殖は投与後1日目から始まり、特に5日目までに増殖していることが分かった。更に、細胞増殖は主に、滑膜浅層で起きていた。滑膜浅層の細胞は新たな浅層での増殖細胞により押し出される形で深層へと広がっていた。5-7日目にかけて細胞浸潤のあった滑膜細胞は線維化を認め、さらに血管新生、血管に伴走する神経の新生を認めた。インキャスタンステストによる疼痛回避行動はこの間そして、その後へと継続しており、急性の炎症から慢性疼痛へと続いていた。同時期の細胞と組織の変化は急性の炎症が慢性疼痛へと変化する機序の一旦と言える現象であると考察する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

軟骨変性を主体とする膝変形性関節症の罹患者数は日本国内の4の内820万人以上が膝の慢性疼痛に悩んでいる。一方で、このように高い罹患率にもかかわらず、慢性疼痛発症の病態の科学的検証は不足している。そのため進行機序に基づいた疾患修飾型治療法は無い。炎症誘発物質(モノヨード酢酸)のラット膝関節内への注射は関節炎を誘発し、続いて骨軟骨破壊を起こすため、膝の慢性疼痛モデルとして知られている。インキャスタンステストによる疼痛回避行動はこの間そして、その後へと継続しており、急性の炎症から慢性疼痛へと続いていた。同時期の細胞と組織の変化は急性の炎症が慢性疼痛へと変化する機序の一旦と言える現象であると考察する。

研究成果の概要(英文)：Injection of 1.0 mg of monoiodoacetic acid into the knee of rats examined the cell dynamics. It was found that cell invasion and proliferation began on the 1st day after administration, and increased especially by the 5th day. Furthermore, cell proliferation occurred mainly in the superficial synovial membrane. The cells in the superficial synovial layer spread to the deep layer by being extruded by newly proliferating cells in the superficial layer. On the 5th to 7th days, the synovial cells with cell infiltration showed fibrosis, angiogenesis, and neurogenesis accompanying the blood vessels. Pain avoidance behavior by the incapacity test continued during and after this period, leading from acute inflammation to chronic pain. We consider that the simultaneous changes in cells and tissues are a phenomenon that can be said to be one of the mechanisms by which acute inflammation becomes chronic pain.

研究分野：整形外科分野

キーワード：膝関節

1. 研究開始当初の背景

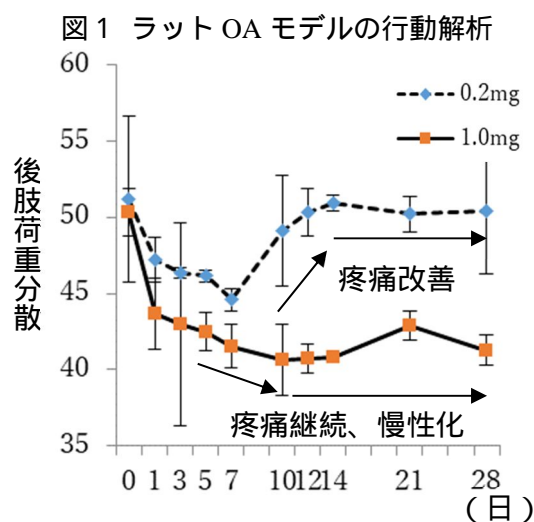
(1) 本研究の学術的背景

ROAD study の報告では軟骨変性を主体とする膝 OA の罹患者数は日本国内の 40 歳以上で 2500 万人以上であった。その内 820 万人以上が膝の慢性疼痛に悩んでおり、日常の活動 (activity of daily living ; ADL) に制限が加わっていた。日本社会の高齢化にともない軟骨変性の進行と患者数が増大していくことが予想される。OA の主たる訴えであり、ADL の低下を生む慢性疼痛にたいして関節水腫、滑膜炎、関節裂隙の消失、MRI 上の骨髄異常陰影が相関したとの報告がある。一方で、このように高い罹患率にもかかわらず、慢性疼痛発症の病態の科学的検証は不足している。さらに慢性疼痛発生の機序を解明する適切な研究モデルが無いため進行機序に基づいた疾患修飾型治療法は無い。現在行われているのは NSAIDs 等による症状緩和型治療法のみである。来たる高齢化社会と患者数の更なる増大に向けて、**慢性疼痛への進行機序を解明し、その機序に基づいた疾患修飾型治療法**にて慢性疼痛への進行を制御する必要がある。

○私は大学院時代に膝関節急性疼痛-消退モデルと慢性疼痛モデルを作成した。

【Hoshino et al BMC Musculoskelet Disord. 2018 Aug 16.】

炎症誘発物質 (モノヨード酢酸) のラット膝関節内への注射は関節炎を誘発し、続いて骨軟骨破壊を起こす。ヒト OA を再現するモデルとして一般的に使われている。当研究ではモノヨード酢酸の投与量を調整して行動解析をおこない、急性疼痛-消退モデルと、慢性疼痛モデルを再現することに成功した。モノヨード酢酸 0.2 mg を投与した急性疼痛-消退モデルでは炎症誘発 7 日目以降、行動解析にて疼痛回避行動が消失した。(図 1) 一方、モノヨード酢酸を 1.0 mg 投与した慢性疼痛モデルでは疼痛回避行動は 7 日目以降も継続した。



慢性疼痛モデルの組織学的検討では急性疼痛から慢性疼痛への移行期である、7 日目、14 日目においてサフラニン O による軟骨の染色低下、プロテオグリカンの低下は認められたが骨軟骨欠損は認めていなかった。一方で滑膜、膝蓋下脂肪体では細胞増殖、脂肪体の変性を認めた。前述のように関節水腫、滑膜炎、関節裂隙の消失、MRI 上の骨髄異常陰影等が慢性疼痛と相関するが、慢性疼痛への移行期においては関節内のどの組織において急性疼痛から慢性疼痛への移行がおきているかは不明であった。私たちの結果では、慢性疼痛への移行の重要なメカニズムは滑膜、膝蓋下脂肪体で起きていると考えられる。

一方で、以下の点は不明な点として残る。

- ✓ OA の慢性疼痛への移行における関節内組織の線維化の関与とその機序。
- ✓ 慢性疼痛への移行起点をブロックする事の慢性疼痛への進行制御としての有用性。

2. 研究の目的

本研究の目的：

- OAの慢性疼痛移行期の滑膜線維化に対する**疾患特異的マクロファージの作用機序の解明**
- 機序に基づいた**疾患修飾型治療にて慢性疼痛への進行を制御する新規治療法の創出**

慢性疼痛への進行の制御を目的として関節水腫、滑膜炎、サイトカイン等に着目した研究がある。関節水腫、滑膜炎等、関節炎は慢性疼痛発症の起点になっていると考えられ、薬剤としても抗炎症の代表的薬剤であるステロイドの関節内注射が行われることがある。しかし、ステロイドの関節内注射は同時に関節軟骨の変性を進行させるため、頻回投与は禁忌である。サイトカインについては TGF- β をブロックして線維化を止める試みや、TNF- α 、IL1 などの炎症性サイトカインをブロックする研究が行われているが、いずれも関節軟骨に対する副作用により疾患修飾型治療薬としての開発には至っていない。大学院時代の研究と下記先行研究にて慢性疼痛への移行期においてマクロファージの流入に引き続く関節内軟部組織の線維化を認めた。そこで本研究では線維化に關するマクロファージに着目して慢性疼痛への移行の機序を解明し、疾患修飾型治療法の創出を目指す。

本課題では慢性疼痛への移行起点のうち線維化に關するマクロファージの作用をブロックする疾患修飾型治療による慢性疼痛への進行制御を最終目標としている。軟部組織の線維化をブロックすることは、術後創部痛、術後関節内遺残疼痛、膝以外の関節痛、慢性腰痛症等の整形外科の広範囲な領域の疼痛に対する治療法へ波及すると考える。

3. 研究の方法

ラット (Wistar rat, 雄, 8 週齢) 膝にモノヨード酢酸を低用量と高用量で投与し早期から 7 日目までにト殺行い、組織学的評価とマクロファージ、CGRP 陽性細胞の免疫染色を行った。更に長期に関してはインキャスタテストと 4 週での組織学的評価を行い、膝慢性疼痛における細胞動態を調べた。

4. 研究成果

実験 1 疼痛の慢性化における炎症細胞浸潤と線維化

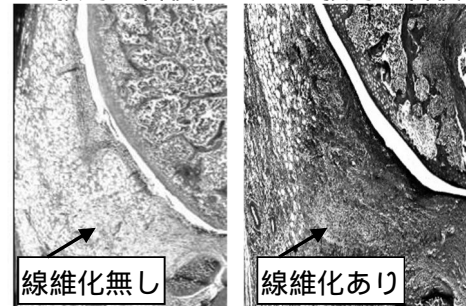
低用量モノヨード酢酸を投与した急性疼痛-消退モデルでは、5 日目までに一過性の中等度の細胞浸潤を認めたが、その後細胞数は減少し、線維化等の器質的变化はなかった。

高用量モノヨード酢酸を投与した慢性疼痛モデルでは、投与後早期 1 日目に血管周囲より細胞浸潤がはじまり、続いて膝蓋下脂肪体全体に細胞浸潤を認めた。免疫染色によるマクロファージの評価でも早期の血管周囲での増加にはじまり、続いて**膝蓋下脂肪体全体でのマクロファージの増加**を認めた。続いて急性疼痛から慢性疼痛への移行期の投与後 5 日

図 2 慢性疼痛モデル 線維化

モノヨード酢酸
投与 5 日後

投与 7 日後



目から 7 日目にかけて**膝蓋下脂肪体の線維化**が急激におきていた。ツクリトクローム染色

実験 2 疼痛の慢性化における線維化内への血管新生と CGRP 陽性繊維の侵入

7日目から14日目にかけて α -SMA 染色で新生血管の増加を認めた。CGRP 染色では、IFPの微小血管周囲に CGRP 陽性の線維数が増加した。

実験3 ラット (Wistar rat, 雄, 8週齢) の膝にモノヨード酢酸を 1.0 mg投与して細胞動態を調べた、細胞は浸潤と増殖は投与後1日目から始まり、特に5日目までに増殖していることが分かった。更に、細胞増殖は主に、滑膜浅層で起きていた。滑膜浅層の細胞は新たな浅層での増殖細胞により押し出される形で深層へと広がっていた。5-7日目にかけて細胞浸潤のあった滑膜細胞は線維化を認め、さらに血管新生、血管に伴走する神経の新生を認めた。インキャパスタンステストによる疼痛回避行動はこの間そして、その後へと継続しており、急性の炎症から慢性疼痛へと続いていた。同時期の細胞と組織の変化は急性の炎症が慢性疼痛へとなる機序の一旦と言える現象であると考察する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hoshino Takashi, Watanabe Toshifumi, Nakagawa Yusuke, Katagiri Hiroki, Ozeki Nobutake, Ohara Toshiyuki, Shioda Mikio, Kono Yuji, Sekiya Ichiro, Koga Hideyuki	4. 巻 33
2. 論文標題 Clinical outcomes of two-stage revision total knee arthroplasty in infected cases with antibiotic-loaded cement spacers produced using a handmade silicone mold	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Knee Surgery & Related Research	6. 最初と最後の頁 1~10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s43019-021-00113-3	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 Takashi Hoshino 1, Yusuke Nakagawa, Kei Inomata, Toshiyuki Ohara, Hiroki Katagiri, Koji Otabe, Kanehiro Hiyama, Kenta Katagiri, Mai Katakura, Hiroko Ueki, Masaya Hayashi, Tsuyoshi Nagase, Ichiro Sekiya, Takashi Ogiuchi, Takeshi Muneta, Hideyuki Koga	4. 巻 27
2. 論文標題 Effects of different surgical procedures for meniscus injury on two-year clinical and radiological outcomes after anterior cruciate ligament reconstructions. -TMDU MAKs study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Orthopaedic Science	6. 最初と最後の頁 199~206
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jos.2020.12.010	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 Stocco Elena, Porzionato Andrea, De Caro Raffaele, Macchi Veronica	4. 巻 39
2. 論文標題 RE: Onuma H, Tsuji K, Hoshino T, Inomata K, Udo M, Nakagawa Y, Katagiri H, Miyatake K, Watanabe T, Sekiya I, Muneta T, Koga H. Fibrotic changes in the infrapatellar fat pad induce new vessel formation and sensory nerve fiber endings that associate prolonged pain. J Orthop Res. 2020 Jun;38(6):1296?1306.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Orthopaedic Research	6. 最初と最後の頁 2533~2534
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jor.24966	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 該当する

1. 著者名 Araya Naoko, Miyatake Kazumasa, Tsuji Kunikazu, Katagiri Hiroki, Nakagawa Yusuke, Hoshino Takashi, Onuma Hiroaki, An Saisei, Nishio Hirofumi, Saita Yoshitomo, Sekiya Ichiro, Koga Hideyuki	4. 巻 48
2. 論文標題 Intra-articular Injection of Pure Platelet-Rich Plasma Is the Most Effective Treatment for Joint Pain by Modulating Synovial Inflammation and Calcitonin Gene-Related Peptide Expression in a Rat Arthritis Model	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The American Journal of Sports Medicine	6. 最初と最後の頁 2004 ~ 2012
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/0363546520924011	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 An J.-S., Tsuji K., Onuma H., Araya N., Isono M., Hoshino T., Inomata K., Hino J., Miyazato M., Hosoda H., Kangawa K., Nakagawa Y., Katagiri H., Miyatake K., Sekiya I., Muneta T., Koga H.	4. 巻 29
2. 論文標題 Inhibition of fibrotic changes in infrapatellar fat pad alleviates persistent pain and articular cartilage degeneration in monoiodoacetic acid-induced rat arthritis model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Osteoarthritis and Cartilage	6. 最初と最後の頁 380 ~ 388
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.joca.2020.12.014	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 Hoshino Takashi, Nakagawa Yusuke, Inomata Kei, Ohara Toshiyuki, Katagiri Hiroki, Otabe Koji, Hiyama Kanehiro, Katagiri Kenta, Katakura Mai, Ueki Hiroko, Hayashi Masaya	4. 巻 20
2. 論文標題 Effects of different surgical procedures for meniscus injury on two-year clinical and radiological outcomes after anterior cruciate ligament reconstructions. -TMDU MAKS study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Orthopaedic Science	6. 最初と最後の頁 30376 ~ 30382
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jos.2020.12.010	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 Cui Weiding, Nakagawa Yusuke, Katagiri Hiroki, Otabe Koji, Ohara Toshiyuki, Shioda Mikio, Kohno Yuji, Hoshino Takashi, Yoshihara Aritoshi, Sekiya Ichiro, Koga Hideyuki	4. 巻 29
2. 論文標題 Knee laxity, lateral meniscus tear and distal femur morphology influence pivot shift test grade in ACL injury patients	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy	6. 最初と最後の頁 633 ~ 640
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00167-020-05994-7	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 Onuma Hiroaki, Tsuji Kunikazu, Hoshino Takashi, Inomata Kei, Udo Mio, Nakagawa Yusuke, Katagiri Hiroki, Miyatake Kazumasa, Watanabe Toshifumi, Sekiya Ichiro, Muneta Takeshi, Koga Hideyuki	4. 巻 38
2. 論文標題 Fibrotic changes in the infrapatellar fat pad induce new vessel formation and sensory nerve fiber endings that associate prolonged pain	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Orthopaedic Research	6. 最初と最後の頁 1296 ~ 1306
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jor.24580	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 Koga Hideyuki, Nakamura Tomomasa, Nakagawa Yusuke, Ozeki Nobutake, Hoshino Takashi, Amemiya Masaki, Sekiya Ichiro	4. 巻 11
2. 論文標題 Simultaneous Correction of Varus Deformity and Posterior Tibial Slope by Modified Hybrid Closed-Wedge High Tibial Osteotomy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Arthroscopy Techniques	6. 最初と最後の頁 e2081 ~ e2089
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.eats.2022.08.007	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 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------