

機関番号：82710

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23390371

研究課題名(和文)変形性関節症における滑膜病変誘導因子の同定

研究課題名(英文)Identification of factors that promote synovial pathology in osteoarthritic joints

研究代表者

福井 尚志 (Fukui, Naoshi)

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)・その他部局等・その他

研究者番号：10251258

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,700,000円、(間接経費) 4,410,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では関節軟骨から荷重によって遊離する因子に着目し、変形性関節症(OA)で滑膜病変が生じる機序を知ることを目的として研究を行った。OA罹患軟骨と対照軟骨から荷重によって遊離する因子を比較した結果、血管新生を誘導する作用のあるVEGF-Aが変性軟骨から荷重によって多量に遊離することが明らかとなった。次に定量PCRとLuminexによりOA滑膜の解析を行い、VEGF-Aの発現レベルがVEGF-Aによって発現が誘導されるMMP-2、MMP-14、urokinaseの発現と有意に相関することがわかった。これらの事実からOAにおける滑膜病変の誘導に血管新生が重要な役割を果たしていることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：In this study, we attempted to elucidate the mechanism(s) which induces synovial change in OA joints. We focused proteins released from osteoarthritic (OA) cartilage upon physiological loading, and found that VEGF-A is released profoundly from OA cartilages compared with the control cartilages. In the next step of research, we analyzed OA synovium by qPCR and Luminex, and found significant positive correlations between the expression of VEGF-A and that of MMP-2, MMP-9 and urokinase, the proteinases whose expression is induced by VEGF-A. With these findings, we have a conclusion that angiogenesis may be a critical event in the development of synovial pathology in OA.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・整形外科学

キーワード：変形性関節症 滑膜

1. 研究開始当初の背景

近年の研究の結果から変形性関節症(OA)における症状の発現には骨内の変化と滑膜の変化の2つが関与することが知られてきた。本研究開始の時点で骨内の病変についてはすでにながりの知見が積み重ねられていたが、滑膜病変については解明が立ち遅れていた。本研究を開始した時点でも臨床的には関節鏡やMRIを用いた研究から滑膜病変と膝OAの症状や進行との関連が報告されており、その後も現在に至るまでOAにおける滑膜病変の重要性を示す論文が継続的に発表されている。しかし滑膜に病変が生じる機序についてはなお不明であった。このため本研究ではOAの滑膜病変に関して研究を展開した。

2. 研究の目的

本研究の目的はOAにおける滑膜病変の本態を明らかにすることであった。

3. 研究の方法

(1)本研究ではヒトの膝関節のOAが荷重によって悪化することに着目し、OA膝関節から採取した変性軟骨と剖検例の病歴のない膝関節から採取した対照軟骨に対して歩行の際に加わるのと同程度の荷重を繰り返し加えて遊離するタンパクは何かを検討し、さらにその中で対照軟骨に比してOA軟骨からの遊離量が有意に変化している因子を特定した。

(2)上記の解析により見出された因子の作用とOA検体に関する既存のデータ(軟骨および滑膜のcDNAマイクロアレイ解析の結果およびOA関節液の解析結果)を照らし合わせ、滑膜に病変を引き起こすメカニズムを明らかにした。

(3)一次培養軟骨細胞を用いた実験でOA軟骨において滑膜病変を引き起こす因子の遊離量が増加あるいは減少する機序を明らかにするための実験を行った。

4. 研究成果

(1)荷重によって軟骨から遊離する因子をプロテオーム解析の手法を含む種々の方法で解析・検討した結果、血管新生を誘導するVEGF-AとFGF-2が対照軟骨に比して変性軟骨から荷重によって多量に遊離することが明らかとなった。この傾向はとくにVEGF-Aについて顕著で、変性軟骨からの湿重量あたりの遊離量は対照軟骨からの20倍以上に達した。

次に変性軟骨と対照軟骨の遺伝子発現レベルを検討したところ、軟骨中の単位湿重量あたりのVEGF-Aの含有量はやはりOA軟骨で正常軟骨の10倍以上と顕著に亢進していること、しかし非常に興味深いことにVEGF-Aの遺伝子発現レベルはOA軟骨と正常軟骨の間でほとんど差がないことが明らかになった。

(2)滑膜のマイクロアレイの解析結果から

VEGF-AおよびVEGF-Aに対する主要な受容体であるKDR(VEGF-R2)の遺伝子発現レベルがそれぞれVEGF-Aによって発現が誘導されることが知られているMMP-2、MMP-14、urokinaseの発現レベルそれぞれと正の有意の相関があることが明らかとなった。さらにVEGF-AおよびKDRの遺伝子発現レベルは滑膜で産生され関節液中に多量に遊離されるMMP-1、MMP-3の発現レベルとも有意に相関していた。

(3)本研究ではさらにOA軟骨でVEGF-Aの産生が遺伝子発現の亢進を伴わずに生じる機序を検討した。種々の検討の結果、正常な関節軟骨では軟骨細胞においてVEGF-Aの産生はInterferon- γ -activated inhibitor of translation(GAIT) complexの働きでタンパクへの翻訳が強力に抑制されていることが明らかになった。さらに研究を進め、ヒト軟骨細胞においてGAIT complexの働きは主にDAPK3によって制御されること、しかしOA軟骨ではマトリクスの変化から軟骨細胞に発現するインテグリンが活性化され、その結果DAPK3の活性低下が生じ、さらにそれによってGAIT complexの機能低下が生じてVEGF-Aのタンパク産生が亢進することが明らかとなった。

以上、本研究における知見はOAにおける滑膜病変の抑制を考える上で極めて有意な知見を提供すると考えられた。

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23件)

1. Matsuoka T, Mitomi H, Fukui N, Kanazawa H, Saito T, Hayashi T, Yao T. Cluster analysis of claudin-1 and -4, E-cadherin and β -catenin expression in colorectal cancers. *J Surg Oncol* 103:674-686, 2011.
2. Kou I, Takahashi A, Urano T, Fukui N, Ito H, Ozaki K, Tanaka T, Hosoi T, Shiraki M, Inoue S, Nakamura Y, Kamatani N, Kubo M, Mori S, Ikegawa S. Common variants in a novel gene, FONG on chromosome 2q33.1 confer risk of osteoporosis in Japanese. *PLoS One* 6:e19641, 2011.
3. Fukui N, Ikeda Y, Tanaka N, Wake M, Yamaguchi T, Mitomi H, Ishida S, Furukawa H, Miyamoto Y, Sawabe M, Hamada Y, Tashiro T, Katsuragawa Y, Touma S. $\alpha\beta$ 5 integrin promotes dedifferentiation of monolayer-cultured articular chondrocytes. *Arthritis Rheum* 63:1938-1949, 2011.
4. Iwaso H, Uchiyama E, Sakakibara S, Fukui N. Modified double-row technique for

- arthroscopic Bankart repair: surgical technique and preliminary results. *Acta Orthop Belg* 77:252-257, 2011.
5. Fukui N, Ikeda Y, Tanaka N. The use of laser capture microdissection on adult human articular cartilage for gene expression analysis. *Methods Mol Biol* 755:449-459, 2011.
 6. Mitomi H, Fukui N, Kishimoto I, Tanabe S, Kikuchi S, Saito T, Hayashi T, Yao T. Role for p16^{INK4a} in progression of gastrointestinal stromal tumors of the stomach: alteration of network members. *Hum Pathol* 42:1505-1513, 2011.
 7. Fukui S, Fujita J, Tsujimura M, Sumikawa Y, Hayashi Y, Fukui N. Late referrals to home palliative care service affecting death at home in advanced cancer patients in Japan: a nationwide survey. *Ann Oncol* 22:2113-2120, 2011.
 8. Fukui N, Watanabe Y, Nakano T, Sawaguchi T, Matsushita T. Predictors for ambulatory ability and the change in ADL after hip fracture in patients with different levels of mobility before injury: a one-year prospective cohort study. *J Orthop Trauma* 26:163-171, 2012.
 9. Takahashi T, Naito S, Onoda J, Yamauchi A, Nakamura E, Kishino J, Kawai T, Matsukawa S, Toyosaki-Maeda T, Tanimura M, Fukui N, Numata Y, Yamane S. Development of a novel immunoassay for the measurement of type II collagen neopeptide generated by collagenase cleavage. *Clin Chim Acta* 413:1591-1599, 2012.
 10. Furukawa H, Oka S, Shimada K, Sugii S, Ohashi J, Matsui T, Ikenaka T, Nakayama H, Hashimoto A, Takaoka H, Arinuma Y, Okazaki Y, Futami H, Komiya A, Fukui N, Nakamura T, Migita K, Suda A, Nagaoka S, Tsuchiya N, Tohma S. Association of human leukocyte antigen with interstitial lung disease in rheumatoid arthritis: a protective role for shared epitope. *PLoS One* 7:e33133, 2012.
 11. Naito S, Takahashi T, Onoda J, Yamauchi A, Kawai T, Kishino J, Yamane S, Fujii I, Fukui N, Numata Y. Development of a neutralizing antibody specific for the active form of matrix metalloproteinase-13. *Biochemistry* 51:8877-8884, 2012.
 12. Fukuda I, Ishihara T, Ohmachi S, Sakikawa I, Morita A, Ikeda M, Yamane S, Toyosaki-Maeda T, Takinami Y, Okamoto H, Numata Y, Fukui N. Potential plasma biomarkers for progression of knee osteoarthritis using glycoproteomic analysis coupled with a 2D-LC-MALDI system. *Proteome Sci* 10:36, 2012.
 13. Tashiro T, Seino S, Sato T, Matsuoka R, Masuda Y, Fukui N. Oral administration of polymer hyaluronic acid alleviates symptoms of knee osteoarthritis: a double-blind, placebo-controlled study over a 12-month period. *Sci World J* 2012:167928, 2012.
 14. Furukawa H, Oka S, Shimada K, Sugii S, Ohashi J, Matsui T, Ikenaka T, Nakayama H, Hashimoto A, Takaoka H, Arinuma Y, Okazaki Y, Futami H, Komiya A, Fukui N, Nakamura T, Migita K, Suda A, Nagaoka S, Tsuchiya N, Tohma S. Association of human leukocyte antigen with interstitial lung disease in rheumatoid arthritis: a protective role for shared epitope. *PLoS One* 7. e33133, 2012.
 15. Wake M, Hamada Y, Kumagai K, Tanaka N, Ikeda Y, Nakatani Y, Suzuki R, Fukui N. Up-regulation of interleukin-6 and vascular endothelial growth factor-A in the synovial fluid of temporomandibular joints affected by synovial chondromatosis. *Br J Oral Maxillofac Surg* 51:164-169, 2013.
 16. Furukawa H, Oka S, Matsui T, Hashimoto A, Arinuma Y, Komiya A, Fukui N, Tsuchiya N, Tohma S. Genome, epigenome and transcriptome analyses of a pair of monozygotic twins discordant for systemic lupus erythematosus. *Hum Immunol* 74:170-175, 2013.
 17. Furukawa H, Oka S, Shimada K, Sugii S, Ohashi J, Matsui T, Ikenaka T, Nakayama H, Hashimoto A, Takaoka H, Arinuma Y, Okazaki Y, Futami H, Komiya A, Fukui N, Nakamura T, Migita K, Suda A, Nagaoka S, Tsuchiya N, Tohma S. Association of human leukocyte antigen with interstitial lung disease in rheumatoid arthritis: a protective role for shared epitope. *PLoS One* 8:e53910, 2013. doi: 10.1371/journal.pone.0053910.
 18. Oka S, Furukawa H, Shimada K, Hayakawa H, Fukui N, Tsuchida N, Tohma S. Serum biomarker analysis of collagen disease patients with acute-onset diffuse interstitial lung disease. *BMC Immunol* 14:9, 2013.

- doi: 10.1186/1471-2172-14-9.
19. Furukawa H, Kawasaki A, Oka S, Shimada K, Matsui T, Ikenaka T, Hashimoto A, Okazaki Y, Takaoka H, Futami H, Komiya A, Kondo Y, Ito S, Hayashi T, Matsumoto I, Kusaoi M, Takasaki Y, Nagai T, Hirohata S, Setoguchi K, Suda A, Nagaoka S, Kono H, Okamoto A, Chiba N, Suematsu E, Fukui N, Hashimoto H, Sumida T, Ono M, Tsuchiya N, Tohma S. Association of a Single Nucleotide Polymorphism in the SH2D1A Intronic Region with Systemic Lupus Erythematosus. *Lupus* 22(5):497-503, 2013. doi 10.1177/0961203313479421.
 20. Yamaguchi T, Omori M, Tanaka N, Fukui N. Distinct and additive effects of sodium bicarbonate and continuous mild heat stress on fiber type shift via calcineurin/NFAT pathway in human skeletal myoblasts. *Am J Physiol Cell Physiol* 305(3):C323-333, 2013. doi: 10.1152/ajpcell.00393.2012.
 21. Matsukawa S, Tanimura M, Toyosaki-Maeda T, Noda A, Kobayashi M, Yamauchi A, Onoda J, Tsuji T, Takahashi T, Matsuo T, Fukui N. CIINE Reflects Collagenase-Specific CII Breakdown in Cartilage Explant and Whole Body of Canine. *Biomark Insights* 8:77-83, 2013. doi: 10.4137/BMI.S11627.
 22. Tanaka N, Ikeda Y, Yamaguchi T, Furukawa H, Mitomi H, Nakagawa T, Tohma S, Fukui N. $\alpha 5\beta 1$ integrin induces the expression of noncartilaginous procollagen gene expression in articular chondrocytes cultured in monolayers. *Arthritis Res Ther* 15(5):R127, 2013. doi: 10.1186/ar4307.
 23. Takinami Y, Yoshimatsu S, Uchiumi T, Toyosaki-Maeda T, Morita A, Ishihara T, Yamane S, Fukuda I, Okamoto H, Numata Y, Fukui N. Identification of potential prognostic markers for knee osteoarthritis by serum proteomic analysis. *Biomark Insights* 8:85-95, 2013. doi: 10.4137/BMI.S11966.
- [学会発表] (計 19 件)
1. Fukui N, Tanaka N, Ikeda Y, Yamaguchi T, Miyamoto Y, Tashiro T, Katsuragawa Y. Reduced IGF signaling may be responsible for the decline in cartilage matrix gene expression in degenerated areas within osteoarthritis cartilage. Osteoarthritis Research Society International. San Diego, 2011.9.15-18.
 2. 福井尚志, 山根昌治, 田中信帆, 田中こなぎ, 池田泰子, 増田理亜子, 山口鉄生. 複数の既知バイオマーカーの組み合わせによる変形性膝関節症の病態評価の試み. JOSKAS. 札幌市, 2011.6.16-18.
 3. 田中信帆, 石田暁, 大森舞子, 和気昌弘, 池田泰子, 山口鉄生, 宮本恵成, 田代俊之, 桂川陽三, 福井尚志. 変形性関節症では軟骨変性部で IGF シグナルの低下によって基質産生が低下している. JOSKAS. 札幌市, 2011.6.16-18.
 4. 山口鉄生, 大森舞子, 田中信帆, 和気昌弘, 池田泰子, 宮本恵成, 田代俊之, 桂川陽三, 沢辺元司, 福井尚志. 関節症における軟骨変性には局所的な TIMP の発現低下が関与する. JOSKAS. 札幌市, 2011.6.16-18.
 5. 福井尚志, 田中 信帆, 石田 暁, 池田 泰子, 山口 鉄生. 宮本 恵成, 田代 俊之, 桂川 陽三. 変形性関節症では軟骨変性部において IGF シグナルの低下によって基質産生が低下している. 日本整形外科学会基礎学術集会. 前橋市, 2011.10.20-21.
 6. 福井尚志, 田中 信帆, 池田 泰子, 山口 鉄生. 変形性関節症では血管新生が滑膜病変を引き起こす重要な機序である. 日本軟骨代謝学会 名古屋市, 2012.3.9-10.
 7. 田中信帆, 和気昌弘, 池田泰子, 山口鉄生, 福井尚志. 変形性関節症では変性軟骨から荷重によって血管新生を誘導する因子が放出される. 日本軟骨代謝学会. 名古屋市, 2012.3.9-10.
 8. Fukui N, Tanaka N, Wake M, Ikeda Y, Yamaguchi T, Yamane S. Can the diagnostic and prognostic capacity of OA biomarkers be improved by combining multiple factors? 2012 World Congress on Osteoarthritis 2012.4.26-29. Barcelona, Spain.
 9. Yamaguchi T, Fukui N. Distinct and additive effects of sodium bicarbonate and mild heat stress on a fiber type shift via calcineurin-NFAT pathway in human skeletal myoblasts. 17th Annual Congress of the European College of Sports Science 2012.7.4 - 7. Brussels, Belgium .
 10. 田中信帆, 池田泰子, 和気昌弘, 山口鉄生, 福井尚志. 変形性関節症では変性軟骨から荷重によって血管新生を誘導する因子が放出される. 第 4 回日本スポーツ・膝・関節鏡学会 2012.7.19-21. 沖縄.
 11. 福井尚志, 田中信帆, 池田泰子, 和気昌弘,

- 山口鉄生 変形性関節症では血管新生が滑膜病変を引き起こす. 第4回日本スポーツ・膝・関節鏡学会 2012.7.19-21 . 沖縄 .
12. 山口鉄生、田中信帆、福井尚志 . 持続的溫度変化がヒト筋芽細胞の増殖・分化へ与える効果とその分子メカニズム. 第27回日本整形外科学会基礎学術集会 2012.10.26 - 27 . 名古屋 .
 13. 福井尚志、田中信帆、池田泰子、山口鉄生、田代俊之、桂川陽三 . 変形性関節症では変性軟骨から荷重によって血管新生を誘導する因子が放出される . 第27回日本整形外科学会基礎学術集会 2012.10.26 - 27 . 名古屋 .
 14. 福井尚志、田中信帆、池田泰子、山口鉄生、田代俊之、桂川陽三 . 変形性関節症では血管新生が滑膜病変を引き起こす重要な機序である . 第27回日本整形外科学会基礎学術集会 2012.10.26 - 27 . 名古屋 .
 15. 福井尚志、田中信帆、池田泰子、山口鉄生、十字琢夫、増田公男、森俊仁 . 変形性膝関節症において V E G F - A の活性阻害は滑膜病変を軽減する事で治療効果を示す可能性がある . 第5回日本関節鏡・膝・スポーツ整形外科学会 . 札幌市、2013.6.20-22.
 16. 田中 信帆、池田 泰子、宮 冬彦、中島正宏、角田達郎、池川志郎、福井尚志 . 軟骨の層間の違いを考慮した O A と対照軟骨のトランスクリプトーム解析 . 第5回日本関節鏡・膝・スポーツ整形外科学会 . 札幌市、2013.6.20-22.
 17. 福井尚志、田中信帆、池田泰子、山口鉄生 . 変形性関節症において血管内皮細胞増殖因子 A の活性阻害は治療効果を示すか — 予備的検討の結果 — . 第28回日本整形外科学会基礎学術集会 . 千葉市、2013.10.17-18.
 18. 福井尚志、田中 信帆、池田 泰子、田代俊之、桂川陽三 . O A 軟骨では GAIT system の機能低下によって VEGF-A の産生が亢進している . 第27回日本軟骨代謝学会 京都市、2014.2.28-3.1.
 19. 田中信帆、池田 泰子、田代俊之、桂川陽三、福井尚志 . O A 軟骨における MMP-13 の発現には Toll-like receptor-3 が関与する可能性がある . 第27回日本軟骨代謝学会 京都市、2014.2.28-3.1.

〔図書〕(計4件)

1. 福井尚志 . 内側型変形性関節症の進行過程

からみた運動療法の適応 . 臨床スポーツ医学 28:595-601, 2011.

2. 福井尚志 . 細胞外マトリクスによる関節軟骨細胞の機能の変化 . クリニカル・カルシウム 21:65-74, 2011.
3. 山口鉄生、福井尚志 . 持続的溫度変化がヒト筋芽細胞の増殖・分化へ与える効果とその分子メカニズム . 日本整形外科学会雑誌 88:16-22, 2014.
4. Yamaguchi T, Tanabe S and Fukui N. Mild heat stress changes cell differentiation and function. *Recent Res Devel Physiol* 5:97-104, 2012.

〔産業財産権〕

出願状況(計1件)

名称: 関節疾患の治療予防剤

発明者: 福井尚志

権利者:

独立行政法人国立病院機構

公益財団法人ヒューマンサイエンス財団

種類: 特許

番号: 特願 2014-075702

出願年月日: 2014/4/1

国内外の別: 国内

取得状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

福井尚志 (Fukui, Naoshi)

研究者番号: 10251258

(2) 研究分担者

鈴木 孝昌 (Suzuki, Takayoshi)

研究者番号: 30226526

古川 宏 (Furukawa, Hiroshi)

研究者番号: 00372293

(3)連携研究者

なし