

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 23 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592209

研究課題名(和文) TACE / ADAM17に着目した有痛性変形性関節症の病態と治療法の解明

研究課題名(英文) Analysis for pathology of upper limb osteoarthritis with pain, TACE/ADAM17

研究代表者

建部 将広 (Masahiro, Tatebe)

名古屋大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：60420379

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：有痛性上肢関節障害を約40検体収集し、疼痛に関する因子についての検討を行った。臨床的な機能評価/うつなどの評価をを質問用紙で、関節内の因子の評価はPCR/ELISAを用いてサイトカインなどの発現を測定し検討を行った。手術前後の疼痛・機能と関節内の因子については相関が認められており、また、疼痛に対する反応性についてもある種の相関が認められていた。

研究成果の概要(英文)：We assessed approximately 40 patients who had upper limb joints pain. We analysed factors for related joint pain. Some factors (cytokines in the joints) had a significant correlations with pain and functions both pre and post operation. We will present this finding in the future. And we published some papers about upper limb joint pain.

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：疼痛 変形性関節症 滑膜 サイトカイン アロディニア

1. 研究開始当初の背景

TNF-converting-enzyme (TACE) / a disintegrin and metalloproteinase (ADAM)17 は TNF の切断遊離酵素として報告され、TNF の活性に関与している。(TACE/ADAM17 は TNF の切断遊離酵素として報告されたものであり、ADAM ファミリーと総称される。これらの構造は膜蛋白質であり、メタロプロテアーゼとディスインテグリンという機能ドメインを有し、細胞膜表面に発現される様々なタンパクの細胞外ドメインを切断できる。これら ADAM と共通の構造を持つものとしてヘビ毒メタロプロテアーゼ (snake venom metalloproteinase: SVMP) が知られている。SVMP は高い出血活性を持ち、インテグリンと細胞外マトリックスの相互作用を制御する強力な生理活性をもち、周囲の血管に作用して腫脹や炎症性細胞の活性化も起こすことが報告されている。そして SVMP は血管内皮の基底膜の構造を破壊することなく血管透過性を亢進させるがある薬剤で阻害できる可能性について報告されている。) TACE, TNF は炎症の誘発に関与し、様々な疾患に関連があり、有痛性の変形性関節症の症状誘発に関与すると推定される。また、臨床医にはよく知られた事実であるが、変形性関節症はその症状とレントゲン所見に解離が見られる。なぜレントゲン上変形が高度であっても症状はごく少ないか無症状の症例が見られるのかの原因は不明である。総じて、変形性関節症を含め、関節障害・変性疾患でなぜ疼痛が生じるかについては不明であった。

2. 研究の目的

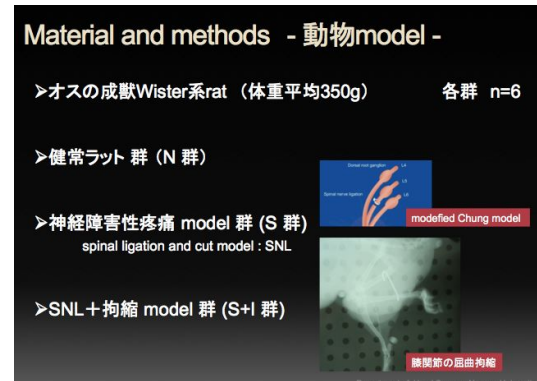
疼痛の有無に代表される変形性関節症の症状は炎症の程度に差があるためと考えた。実際の変形性関節症での症状の発現に関しては TNF の活性化により炎症性メディエーター (IL-1, 6/PGE2 など) が動き、滑膜炎を生じ、侵害受容器 (Nociceptor) を誘導するとともに、Nerve growth factor (NGF) 放出が生じ、NGF は神経因性疼痛の発生に深く関与していることが判明してきている。これらのことから疼痛のある変形性関節症と無いものの違いには TNF / NGF の発現による差が有ると考えている。実際に有痛性の変形性関節症の患者では局所の浮腫・腫脹が見られ、関節内水腫はよく確認され、その程度は比較的臨床所見と一致する。これは SVMP が血管透過性を亢進させるのと同様の作用を TACE/ADAM17 が変形性関節症の滑膜細胞において作用している可能性があり、実際に SVMP は脳血管閉塞の透過性を亢進させることがわかっている。そこでこれらに代表される各種因子 (サイトカイン) の発現に注目し、有痛性の変形性関節症の病態とその治療法について明らかにすることである。これらの関連を明らかにし、その作用を検討することで関節痛の治療方法を確立することを最終的

な目標として研究を計画した。

3. 研究の方法

基礎研究

関節炎モデルとしての疼痛評価は動物レベルでは困難であることを考慮し、疼痛モデルを用いた研究を行った。疼痛モデルとして腰椎神経根切除ラット (SNL) モデルを作成した。また、関節痛との関連を考慮し、関節不動 (拘縮) したモデルとそうでないものとに分けて評価を行った。コントロールとしては健常ラットを用いた。



評価としてフォンフライヘアテスト、膝関節角度測定、筋節長測定、病理組織の鏡検を行い、免疫染色による NGF の発現局在評価、ELISA による pro-inflammatory cytokine として TNF- など、炎症性サイトカインの発現量測定を行った。疼痛モデルに対しては NGF 中和抗体を接種し、その疼痛に対する反応について観察した。

臨床研究 (患者評価資料を添付)

有痛性の関節障害患者の滑膜を採取し各種因子についての発現を測定する。術前に通常の画像検査 (レントゲン・CT・MRI) と上肢機能評価スケール (Hand20: 20 個の質問からな

Hand 20

上肢機能評価 (Hand 20) の記入について

この質問票はあなたの手や腕の症状や能力を調べるためのものです。それぞれの質問に対して、先週1週間の状態を思い出して答えてください。質問文とその内容を示したイラストがあります。各動作を行うにあたって、左右どちらの手あるいは両手を使ったかは関係ありません。あなたがどの程度できたかを○で示してください。普通にできたときは○に○をします。全くできなかった時は10です。半分くらいできたときは5です。10段階の中、どのあたりになるか考えて数字を○で囲んでください。あなたが普段は右手で手を書いていて、英語は何かのトラブルが起きる右手で書いていたなら、右手で手を書く動作について最も当てはまる状態を示してください。

質問の中にあなたが先週1週間で実際に行ってないものがあつた場合には、どの程度できたかを想像して、できるだけすべての質問にお答えください。

(例) ①は指の3関節まで動かしたときの○の位置です。腕をしかめるほどはやりたくないけれども、指先と手首にはできない状態です。

全く問題ない

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

全くできない

お名前 _____

年齢 歳 性別 男 / 女 利き手 右 / 左

記入日 年 月 日

カルテ番号 _____

痛みを感じている時、私たちはさまざまな方法で痛みに対処しようとする。この質問紙では、あなたが痛みを感じている時に、何をし、痛みについて何を考えているかをお聞きします。以下の考えや行動をどの程度行っているかについて、0-5のあてはまる数字に○をつけてお答え下さい。

動作内容	評価(数字に○をつけてください)
1 両手で洗顔する	全くしない (0) 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 全くしている (5)
2 両手の爪を切る (爪きりを使って)	全くしない (0) 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 全くしている (5)
3 両手でのシャツのボタンをかけはずし	全くしない (0) 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 全くしている (5)
4 わるいほうの手でコインを拾う	全くしない (0) 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 全くしている (5)
5 わるいほうの手で蛇口をひねる	全くしない (0) 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 全くしている (5)
6 両手を使って牛乳パックを開ける	全くしない (0) 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 全くしている (5)
7 ペットボトルのフタを開ける	全くしない (0) 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 全くしている (5)
8 タオルをかたく絞る	全くしない (0) 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 全くしている (5)
9 包丁でレゴの袋をむく	全くしない (0) 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 全くしている (5)
10 わるいほうの手で円形のドアを回し、重いドアを開ける	全くしない (0) 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 全くしている (5)

	全くない	あてはまらない	ややあてはまらない	あてはまる	非常にあてはまる
1. 痛みがひどくなったら、けつて寝ることはないと思う。	0	1	2	3	4 5
2. 痛みを感じると、何かひどいことが起きるのではないかと心配する。	0	1	2	3	4 5
3. ひどい痛みを感じた時、すぐに眠る。	0	1	2	3	4 5
4. 痛みがひどくなるような事をしていると、覆え始める。	0	1	2	3	4 5
5. 痛みを感じている時、まともな顔がなくなる。	0	1	2	3	4 5
6. 痛みを感じ始めると、していたことをすぐにやめる。	0	1	2	3	4 5
7. 痛みによって心臓がドキドキし、鼓動が強くなると思う。	0	1	2	3	4 5
8. 痛みが始まったら、痛みを弱めるためにすぐに薬を飲む。	0	1	2	3	4 5
9. 痛みを感じた時、深刻な病気がかかっているかもしれないと考える。	0	1	2	3	4 5
10. 痛みを感じている間、痛み以外のことを考えることができない。	0	1	2	3	4 5
11. 痛みを感じた時は、重要な活動をしないようにする。	0	1	2	3	4 5
12. 痛みを感じた時、めまいがしたり、気が遠くなってしまう。	0	1	2	3	4 5
13. 痛みを感じると、集中できない。	0	1	2	3	4 5
14. 痛みを感じた時は、常に痛みのことを考えている。	0	1	2	3	4 5
15. 痛みのせいで吐き気を感じる。	0	1	2	3	4 5
16. 痛みが強くなった時、身体を動かすことができなくなったり、もっと身体が不自由になるのではないかと感じる。	0	1	2	3	4 5
17. 痛みを感じると、集中できない。	0	1	2	3	4 5
18. 痛みのあと、身体を落ち着かせるのが難しいと感じる。	0	1	2	3	4 5
19. 痛みを感じている時、私は心配をしている。	0	1	2	3	4 5
20. 痛みを引き起こす活動はなるべく避けるようにする。	0	1	2	3	4 5

動作内容	評価(数字に○をつけてください)
11 頭上の棚に両手で重いカバンをのせる (5kgのカバン)	全くしない (0) 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 全くしている (5)
12 洗濯物を洗濯バサミを使って干す	全くしない (0) 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 全くしている (5)
13 両手で髪を洗う	全くしない (0) 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 全くしている (5)
14 わるいほうの手で新聞のページをめくる	全くしない (0) 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 全くしている (5)
15 力仕事を精一杯できる	全くしない (0) 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 全くしている (5)
16 わるいほうの手を人前に出しても美学的に気にならない	全くしない (0) 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 全くしている (5)
17 趣味ができる (絵、裁縫、スポーツなど)	全くしない (0) 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 全くしている (5)
18 日常生活が普通にできる	全くしない (0) 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 全くしている (5)
19 わるいほうの手はどの程度痛いですか	全くない (0) 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 全く痛くない (5)
20 わるいほうの手のために自信を失っている	全くない (0) 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 全く自信を失っていない (5)

SDS 評価表

次の質問を読んで 現在のあなたの状態に最もよく当てはまると思われる欄に○を印をつけて下さい。全ての質問に答えてください。

	ないか たまに	ときどき	かなりの あいだ	ほとんど いつも
気分が沈んで憂うつだ	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
朝がたは一番気分が悪い	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
泣いたり、泣きたくなる	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
夜よく眠れない	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
食欲は普通だ	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
異性に対する関心がある	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
やせてきたことに気がつく	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
便秘している	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
ふだんより動悸がする	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
何となく寝れる	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
気持ちはいつもさっぱりしている	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
いつもとわりなく仕事やれる	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
落ち着かず、じっとしてられない	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
将来に希望がある	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
いつもよりいららする	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
たやすく判断出来る	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
役に立つ、働ける人間だと思う	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
生活はかなり充実している	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
自分が死んだ方が他の者は楽に暮らせると思う	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
日頃していることに満足している	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

る患者立脚型機能評価)、抑うつ)の尺度としての SDS (Self-rating Depression Scale)、疼痛への反応性をみる PASS20 に加え、各種理学所見、一般血液検査(通常)の術前検査で行っている末梢血及び血液生化学検査、CRP などの炎症反応を確認)を施行した。

関節鏡視下滑膜切除の際に得られる滑膜組織について、TNF、NGF、IL-1/6 などの各種炎症因子の発現状況を測定した。具体的には関節液は関節鏡を施行する際にポータル(関節鏡施行・資料1下写真)を作成する際に関節を穿刺する際に採取し、患者の負担にならないように施行した。

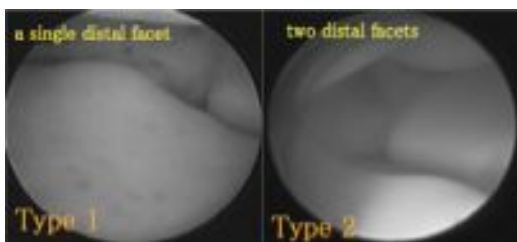
資料1 関節鏡の実際)

作成する際に採取し、遠心分離して蛋白分析の資料とした。滑膜は通常の組織標本として切片を作成し、組織学的な検討を行い、RNA later を用いて保存した関節滑膜について、RNA 抽出し RT-PCR法を用いて詳細な検討を行った。関節液の蛋白分析としては ELISA 法を用いて各種因子の発現量を定量化した。術後一年の時点での評価について患者立脚型評価を用いて行い、術前後の評価と各種因子との関連性について考察する。これらの研究と併せて、疼痛が主訴となる疾患についての検討を期間中に合わせて行った。具体的には尺側手関節痛に対しては治療アルゴリズム(資料2)を作成し、それにそった形での臨床成績をまとめた。



(資料2 治療アルゴリズム)

また、関節鏡所見については月状骨の形状 (資料3) に注目してその形状と疾患に関連がないかと検討を行なっている。



(資料3 月状骨形状)

4. 研究成果

基礎研究

神経切断モデルのみでは関節拘縮は生じず、関節拘縮モデルは筋肉による拘縮(主に弾性低下)が生じているものとの結果が得られていた。NGFの発現については拘縮を生じさせないモデルに付いても発現が認められ、骨近傍や筋萎縮の強い部位に強い発現が認められ、その発現は関節拘縮モデルでより強かった。この発現は神経切断部より広範囲でも認められていたが、反対側(健側)での上昇は

認められず、その他の炎症性サイトカインについても同様の結果が得られていた。なお、NGFの中和抗体を用いることで投与後一週間は疼痛反応が改善することが示されていた。

臨床研究

有痛性上肢関節疾患約40例の検体を用いて疼痛に関する因子について検討を行った。臨床面については機能評価/うつなどの評価を質問用紙方式で術前/術後一年の時点で評価した。関節内の因子についてはPCR/ELISA法を用いて滑膜に発現する各種サイトカインなどについての検討を行った。

これらの結果から、術前後の疼痛・機能障害とある種の因子の相関が認められていた。しかしTNFに関しては相関を認める因子が認められなかった。全体的な傾向として、患者の感じる疼痛の強さとうつの指標が強く関連を認めていることが確認されていた。疼痛の反応性についての指標は術前後では大きな反応をみせていなかった。関節内の因子については因子間の関連性は認めるものの、臨床評価とは個別に関連性を強く認めるものはなかった。

また、疾患別・治療法別での評価を行い、その群内での傾向についても調査した。それぞれの疾患群・治療法群においては各種因子と臨床結果・疼痛に差があることが確認されている。

これらの詳細な結果については今後学会・専門誌にて発表を予定している。また、期間内に結果を得ることは出来なかったが、今後は臨床的な結果を踏まえ、基礎的な実験による裏付けが必要と考えている。

なお、上記の検討と並行する形で上肢関節障害について、変形性関節症およびキーンベック・尺側手関節障害・舟状骨偽関節についてはこの研究期間に複数の発表・論文報告を行った。関節内の構造は疾患群によって有意に性認められていることを確認し、論文報告を行なっている。また、靭帯損傷の程度による臨床成績の差についても報告した。レントゲン上の変形の程度は疼痛とは関連しないが、構造上の違いが疾患の発生には有意に関連していると考えられた。なお、尺側手関節障害については詳細な術後の検討を加え、関節内の滑膜を除去するだけでは症状の改善には不十分であったことを報告している。

今回の結果から確認できたことは、基礎的なデータからは神経を切断するなどの疼痛を生じる原因だけでは疼痛の反応はある程度に収まり、それに加えて関節の不動化を行うことで非常に強い疼痛反応が生じていることが確認されており、その反応には各種炎症性サイトカインが関与していることが確認されている。また、これらの疼痛反応についてはNGF中和抗体がある程度の効果があることが明らかとなった。臨床研究では、疼痛に

関しては局所の因子が疼痛にある程度関与しているが、その程度については疾患によっての違いが大きく、疾患ごとに評価して対処を行う必要があると考えられた。また、局所で産生される因子は疾患によって差はあるものの疼痛に関与していると考えられるが、その因子を算出していると考えられる滑膜の除去のみでは症状は改善されず、疾患の原因となるものを改善させる必要があると考えられた。また、疾患の発生原因については関節不動や解剖学的な構造の問題などが関与している可能性が考えられる。疼痛の原因となる外傷などの場合にやむを得ずに一時的に固定を必要とすることがあるが、それが疼痛の原因となりうるようなことが様々な示唆に富み、今後の運動器疾患の治療を考える上では重要となってくると考えられた。

今回の結果に今後はさらなるデータの積み重ねによる裏付けが必要となってくるが、有痛性関節障害については、まず十分に正確な診断を確立することが必要であり、ひいては病態生理・解剖学的問題をクリアにする必要があり、画像診断法を含めた、的確な診断方法の確立が求められる。また、うつ指の指標が疼痛に関連することから、これらの対策も必要となってくると考えられる。これらの問題は近年急速に患者数の増大が認められており、また、精神症状よりも身体症状がより全面に出てくること多くの場面で認められることは知られており、適切な診断といった観点からもこれらに対する適切な対策が必要となってくると考えられた。診断をしっかりと決定された後は原因の治療が優先される必要があるとの結果であり、これは現在までの外科治療と矛盾はしない結果であると考ええる。

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 6件)

1. Tatebe M, Hirata H, Shinohara T, Yamamoto M, Iwatsuki K. Simple debridement has little useful value on the clinical course of recalcitrant ulnar wrist pain. *Nishizuka T, Bone Joint J.* 2013 Dec;95-B(12):1687-96. doi:10.1302/0301-620X.95B12.31918. 査読有

2. Tatebe M, Imaeda T, Hirata H. The impact of lunate morphology on Kienbock's disease. *J Hand Surg Eur Vol.* 2013 May 27. 査読有

3. Tatebe M, Shinohara T, Okui N, Yamamoto M, Kurimoto S, Hirata H. Arthroscopic lunate morphology and wrist disorders. *Surg Radiol Anat.* 2013 Jan;35(1):79-83.

doi: 10.1007/s00276-012-0991-2. 査読有

4. Tatebe M, Shinohara T, Okui N, Yamamoto M, Kurimoto S, Hirata H. Arthroscopic lunate morphology and wrist disorders. *Surg Radiol Anat.* 2013 Jan;35(1):79-83. doi: 10.1007/s00276-012-0991-2. 査読有

5. Tatebe M, Shinohara T, Okui N, Yamamoto M, Imaeda T, Hirata H. Results of ulnar shortening osteotomy for ulnocarpal abutment after malunited distal radius fracture. *Acta Orthop Belg.* 2012 Dec;78(6):714-8. 査読有

6. Tatebe M, Shinohara T, Okui N, Yamamoto M, Hirata H, Imaeda T. Clinical, radiographic, and arthroscopic outcomes after ulnar shortening osteotomy: a long-term follow-up study. *J Hand Surg Am.* 2012 Dec;37(12):2468-74. doi: 10.1016/j.jhsa.2012.09.011. 査読有

[学会発表](計 4件)

1. Masahiro Tatebe 他 5 名 Scaphoid nonunion with carpal instability; radiological, arthroscopical assessment and clinical results. 2013/10/2-4 Annual meeting of American Society for Surgery of the Hand, San Francisco, USA

2. 建部将広、手指・手関節の変性疾患。2013/8/31-9/1、秋期教育研修会 東京都中央区 ベルサール八重洲

3. 建部将広 他 4 名 舟状月状骨解離に対する診断と治療について 2013/4/18-19 日本手外科学会 神戸市 神戸国際会議場

4. 建部将広 他 4 名 我が国の橈骨遠位端骨折の治療の現況 橈骨遠位端骨折の治療と現況 合併症と遺残変形治療 2013/4/18-19 日本手外科学会 神戸市 神戸国際会議場

6. 研究組織

(1) 研究代表者

建部 将広 (TATEBE, Masahiro)
名古屋大学・医学部附属病院・講師
研究者番号: 60420379

(2) 研究分担者

平田 仁 (HIRATA, Hitoshi)
名古屋大学・医学系研究科・教授
研究者番号: 80173243

篠原 孝明 (SHINOHARA, Takaaki)
名古屋大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：00378209

山本 美知郎 (YAMAMOTO, Michiro)
名古屋大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：90528829

奥井 伸幸 (OKUI, Nobuyuki)
名古屋大学・医学部附属病院・病院助教
研究者番号：70547554

栗本 秀 (KURIMOTO, Shigeru)
名古屋大学・医学部附属病院・医員
研究者番号：70597856

(3)連携研究者
なし