

令和 5 年 5 月 19 日現在

機関番号：34419
 研究種目：基盤研究(C) (一般)
 研究期間：2020～2022
 課題番号：20K09443
 研究課題名(和文) 早期変形性関節症の軟骨下骨骨量減少の機序解明：骨細胞アポトーシスとRANKL発現
 研究課題名(英文) Subchondral bone loss in early knee osteoarthritis: osteocyte apoptosis and RANKL expression
 研究代表者
 赤木 将男 (AKAGI, Masao)
 近畿大学・医学部・教授
 研究者番号：00273441
 交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：40週齢の野生型および高回転型骨粗鬆症を示すつくば高血圧マウス(THM)にDMM手術を行い、膝OAモデルを作成した。脛骨内側軟骨下骨の骨パラメータと形態変化を μ CTにて観察し、骨細胞数およびTRAPおよびRANKL陽性細胞数を組織学的に評価した。BV/TVおよびBMDは経時的に低下し、それぞれ術後4週および8週で有意に低下した。しかし、12週でBMD低下を伴うBV/TV増加を認めた。軟骨下骨高さも経時的に減少し、12週で有意に低下した。骨細胞数は経時的に減少し4週で有意差を認めた。TRAPおよびRANKL発現細胞数は経時的に増加し、2週で有意差を認めた。以上の変化はTHMで著しく促進された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

早期OAにおいては、軟骨下骨の骨吸収が生じ、その後に軟骨下の骨異常リモデリングと骨形態変化が生じることが示された。また、この骨吸収には、軟骨下骨におけるmicrocrackやmicrofractureに伴う骨細胞死と周囲の生存骨細胞におけるRANKL発現と破骨細胞活性化が関与することが示唆された。

以上より、膝OAの予防や発症抑制には発症前後の軟骨下骨の健全性の維持が極めて重要であり、これを目的とした生活指導、食事療法、運動療法や薬物療法の体系化が必要と思われる。また、THMにおいて上記の機序が著しく加速されることより、閉経後骨粗鬆症予防は女性の膝OAに対する重要な予防戦略となる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Knee OA was produced by the DMM(destabilization of medial meniscus)surgery for 40-week-old wild type mice and Tsukuba hypertensive mice(THM)with high tourn-over osteoporosis. Changes in bone parameters and shape in the medial tibial subchondral bone(SB)were observed by μ CT. Numbers of osteocytes,TRAP positive and RANKL positive cells in the SB were counted histologically.BV/TV and BMD decreased with time after operation, and significant differences were noted after 4 and 8 weeks, respectively. 12 weeks after the DMM surgery, however, an increase in BV/TV with a decrease in BMD was noted. Height of the medial tibial SB decreased with time and a significant decrease was noted after 12 weeks. Number of osteocytes in the SB decreased with time and a significant decrease was noted after 4 weeks. TRAP positive and RANKL positive cells increased with time and significant increases were noted after 2 weeks, respectively. In THM, all these changes above mentioned was enhanced significantly.

研究分野：変形性膝関節症、局所レニン・アンギオテンシン系、人工関節置換術

キーワード：早期変形性膝関節症 軟骨下骨 骨量減少 異常骨リモデリング 骨細胞死 RANKL 局所レニン・アンギオテンシン系 閉経後骨粗鬆症

1. 研究開始当初の背景

関節面に対する力学的ストレスが変形性関節症(OA)の重要な発生リスク因子となっているのは疑問の余地がない。従来、この力学的負荷による適応現象としてOA末期には軟骨下骨の骨硬化が生じるとされており、実臨床においても進行期や末期OAの画像では軟骨下骨の骨硬化像が認められる。しかし、近年、早期OAでは軟骨下骨の骨量減少と異常リモデリングが関節軟骨組織の変性摩耗と同時または先んじて生じることが示されていた。そして、一度生じた軟骨変性の修復は極めて困難であることより、早期OAの軟骨下骨に「OAの予防、または、治療のキータゲット」があるのではないかとの考え方が出て来ている。

一方で、骨は力学的負荷に耐え、生体に必要な運動を支える器官としての役割を有するが、一般的には力学的負荷に順応して骨は骨量を増加するものと考えられている。しかし、なぜ力学的負荷が強い状況で発生するOAにおいて、その早期には軟骨下骨の骨量が低下するのか、その詳細は不明であった。

2. 研究の目的

今回の研究の目的は、早期OAにおける骨量減少の機序を明らかにすることである。また、女性の膝OAにおいて重要なリスク要因とされる閉経後骨粗鬆症(高回転型骨粗鬆症)の影響を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、膝関節脛骨内側関節面に強い力学的負荷を加えるマウス内側半月不安定化(DMM)膝OAモデルを用いた。本モデルは膝OA研究においてよく用いられているが、膝軟骨下骨における骨量減少は未だ示されていない。DMM術後0、1、2、4、8、12週の時点で、 μ CTを用いて同一個体における内側脛骨軟骨下骨の骨パラメータ(BV/TB, Tb.Th, Tb.Sp, BMD)をin vivoで測定した。また、骨量や骨密度の変化が内側脛骨軟骨下骨の形態に与える影響を、軟骨下骨高さの変化により評価した(n=7)。さらに、DMM術後0、1、2、4週の時点で骨細胞数、RANKL陽性細胞数、TRAP陽性細胞数の変化を組織学的に観察した(n=7)。これらの観察は、野生型マウス(C57/BL)とともに、高回転型骨粗鬆症を有するつくば高血圧マウス(Tsukuba hypertensive mouse, THM)を用いて行った。THMはC57/BLを背景とし、ヒトレニンとアンギオテンシノーゲン遺伝子を導入したオスマウスである。野生型マウス群とTHM群においては、それぞれSham手術群をコントロールとしておいた(各群n=7)。

4. 研究成果

BV/TVおよびBMDは経時的に減少し、それぞれ術後4週および8週で有意差を認めた。Tb.Thも経時的に減少し、術後4週で有意差を認めた。Tb.Spは経時的に増加し術後4週で有意差を認めた。しかし、12週での観察ではBMD低下を伴うBV/TV増加、Tb.Th増加、Tb.Sp減少の傾向を認めた。すなわち、末期においては、ミネラル化の不十分な骨組織の増加が認められた(図1)。軟骨下骨高さは経時的に減少し、12週で有意差を認めた(図2A)。軟骨高さとBMDの間には強い相関を認めた(図2B)。骨細胞数は経時的に減少し4週で有意差を認めた(図3)。TRAPおよびRANKL発現細胞数は経時的に増加し、2週で有意差を認めた(図4AとB)。以上の全ての変化はTHM群において著しく促進された(図1から4)。以上より、早期OAにおいては、軟骨下骨の骨吸収が生じ、その後に軟骨下の骨異常リモデリングと骨形態変化が生じることが示された。また、この骨吸収には、軟骨下骨におけるmicrocrackやmicrofractureに伴う骨細胞死と周囲の生存骨細胞におけるRANKL発現と破骨細胞活性化が関与することが示唆された。これらの変化は高回転型骨粗鬆症により著しく加速することが明らかになった。

今回の研究はマウス膝OAモデルを用いてOAの超早期から末期までの脛骨軟骨下骨の骨代謝および形態変化を詳細に観察した世界でも初めての研究である。また、オスマウスを用いての高回転型骨粗鬆症の影響を見た世界でも初めての研究である(エストロゲン欠乏の影響を排除している)。今回の研究結果から、膝OAの予防や発症抑制には発症前の軟骨下骨の健全性と発症後の良好な骨代謝(治癒能力)が極めて重要であることが示唆された。これを目的とした生活指導、食事療法、運動療法や薬物療法の体系化が必要と思われる。また、THMにおいて上記の変化が著しく加速されることより、閉経後骨粗鬆症予防は女性の膝OAに対する重要な予防戦略となる可能性が示された。

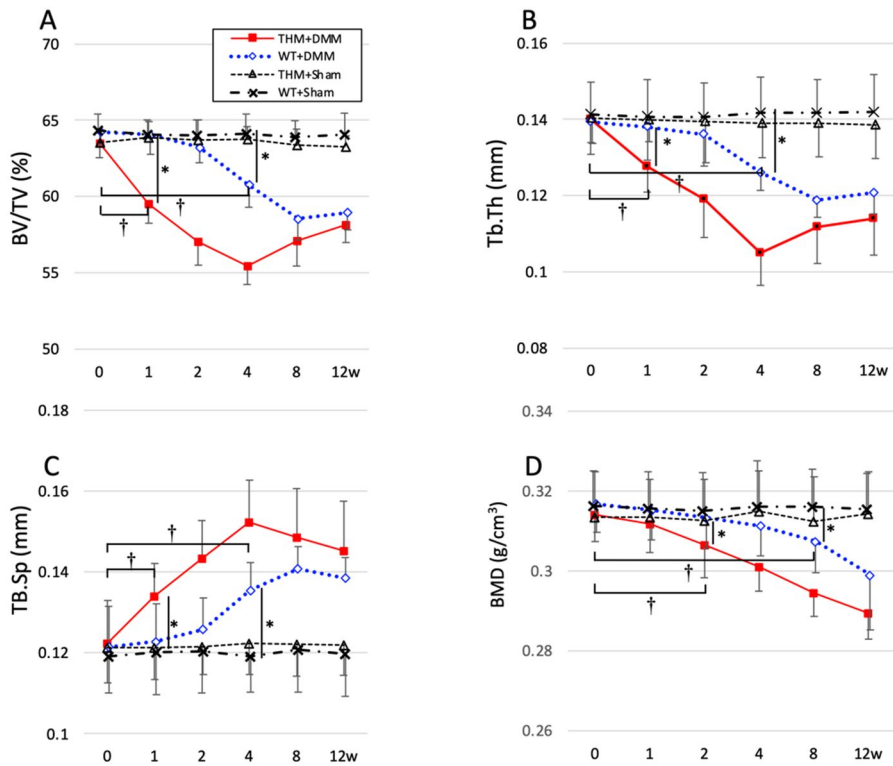


図1 骨パラメータのDMM術後経時的変化（エラーバーは標準偏差）。A: BV/TV (%)、B: Tb/Th (mm)、C: Tb.Sp (mm)、D: BMD (g/cm³)

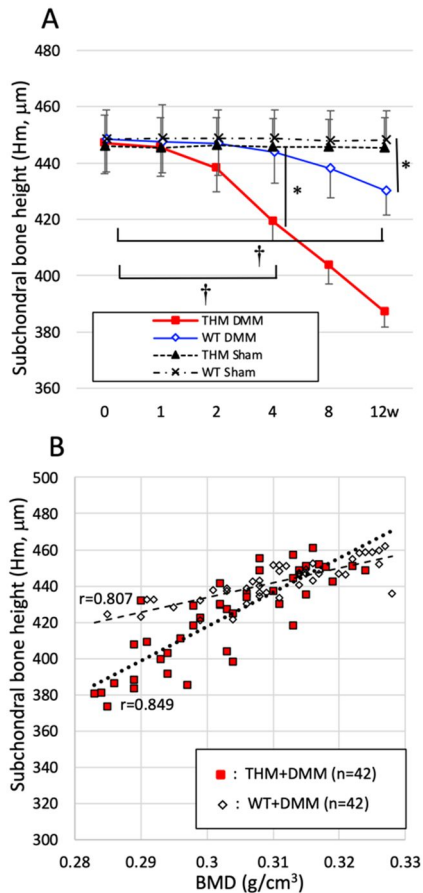


図2 内側脛骨軟骨下骨の形態変化およびその骨密度（BMD）との関連。A: 内側脛骨軟骨下骨の平均高さ（Hm）の経時的変化（エラーバーは標準偏差）、B: HmとBMDとの相関。THM、Wild typeともに強い相関を認めた（それぞれ、 $r=0.849$ 、および、 $r=0.807$ ）。

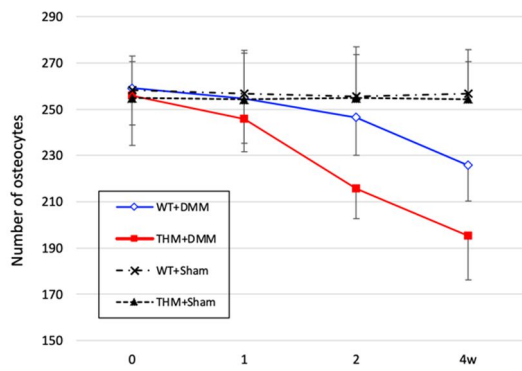


図3 各群における脛骨内側軟骨下骨の細胞数の経時的変化（エラーバーは標準偏差）。

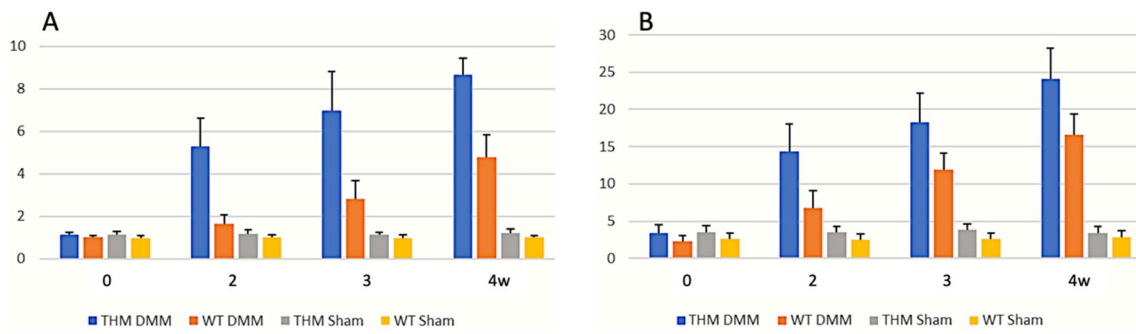


図4 各群における TRAP および RANKL 陽性細胞数の経時的変化。A: TRAP 陽性細胞数、B: RANKL 陽性細胞（エラーバーは標準偏差）。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 橋本晃明 墳本一郎 中村文久 森下貴文 橋本和彦 赤木将男
2. 発表標題 関節軟骨細胞に発現するAT1レセプターは周期的圧迫負荷により活性化され、軟骨肥大変性を促進する
3. 学会等名 第33回日本軟骨代謝学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 橋本晃明 墳本一郎 松村大智 森下貴文 伊藤智彦 家村駿輝 橋本和彦 赤木将男
2. 発表標題 早期膝OAにおける軟骨下骨粗鬆症変化と軟骨変性に局所RASが及ぼす影響
3. 学会等名 第48回日本関節病学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 墳本一郎 松村大智 森下貴文 伊藤智彦 橋本晃明 家村駿輝 橋本和彦 赤木将男
2. 発表標題 早期膝OAにおける軟骨下骨の変化
3. 学会等名 第48回日本関節病学会
4. 発表年 2020年

〔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
研究分担者	橋本 和彦 (HASHIMOTO Kazuhiko) (10635569)	近畿大学・医学部・講師 (34419)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	墳本 一郎 (TSUKAMOTO Ichiro) (20770051)	近畿大学・医学部・講師 (34419)	

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