

# 膝関節症の早期診断と進行予知に関する体液マーカーを用いた二国間共同研究

本日は変形性関節症 - すなわちOsteoarthritis (以下OA) についての、私共の研究成果をご報告させていただきます (スライド1)。

スライド2に示しましたが、変形性関節症は高齢者の身体的不自由をきたす疾患の中で、最も頻度の高いものです。1988年の米国の統計では、年間総治療費55億ドル、人工関節を主体とした手術は50万件に達しています。

OAは高齢者の慢性疾患の中で最も頻度の高い疾患でもあります。スライド3のように、同じく米国の統計では、65歳以上の高齢者の内、約半数が何らかの関節疾患を有し、その大半は本症と考えられています。

人口動態の急速な高齢化を迎えているわが国では、OAは、豊かな老後を送るために、治療体系の整備が急がれる疾患と言えます。

スライド4の写真は典型的な膝のOAの患者さんですが、O脚変形をきたしていることがわかります。



山田 治基 先生  
防衛医科大学校  
整形外科講師

スライド1

膝関節症の早期診断と進行予知に関する  
体液マーカーを用いた二国間研究

防衛医科大学校 整形外科

山田治基

スライド2

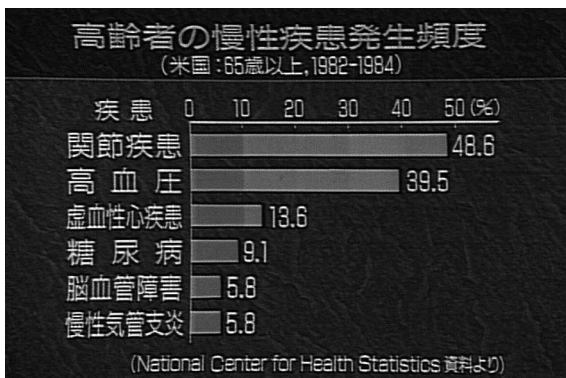
変形性関節症 (Osteoarthritis)

高齢者における身体的障害の  
最大の原因

関節障害治療経費	:	55億ドル
関節形成術	:	50万件以上
有病率 (65歳以上)	:	50%

(1988年、USA)

スライド3

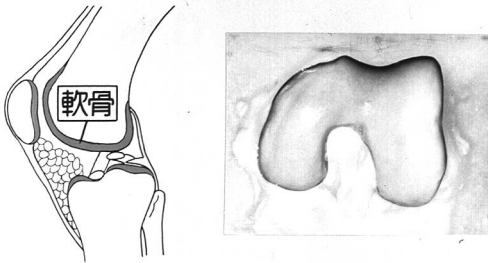


スライド4



スライド5

## 関節軟骨

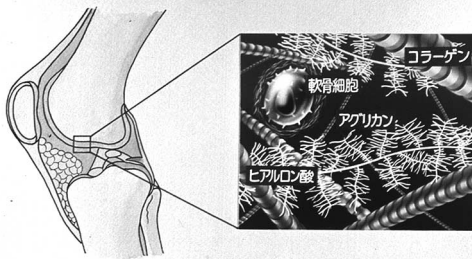


スライド6

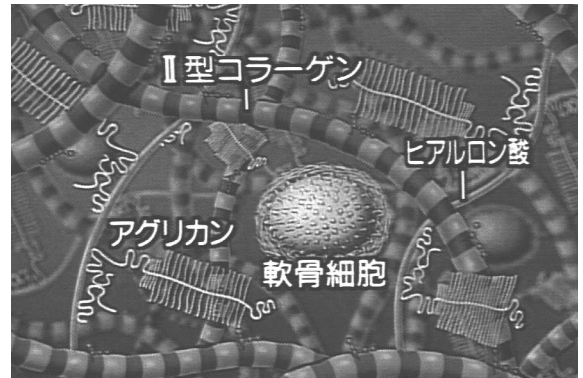


スライド7

## 関節軟骨の分子構造



スライド8



スライド9

## 変形性関節症における診断法

- 1) X線写真
- 2) 関節造影
- 3) 関節鏡
- 4) MRI
- 5) 骨シンチ
- 6) 関節マーカー

ここで関節の解剖学的特徴について簡単に述べておきます。スライド5の写真は正常な膝関節ですが、その表層は、厚さ3mmから4mmの関節軟骨で覆われています。この軟骨は、関節が低摩擦で動くために必要不可欠な構成体です。正常人の関節はこのように平滑で非常になめらかな表面をしています。

スライド6は、OAの患者さんに人工関節を施行する際の術中写真ですが、大腿骨の表面には大きな軟骨の破壊欠損が認められます。OAではこの軟骨の変性破壊が最も重要な病態と言えます。

この関節軟骨は、スライド7のように、軟骨に特異的なII型コラーゲンの網目構造の中に、軟骨型のプロテオグリカン、すなわちアグリカンやヒアルロン酸などが埋め込まれるようにして成り立っています。

数百万の分子量を持つアグリカンの軟骨型プロテオグリカンは、その陰性荷電によって水分を保持し、軟骨特有の衝撃吸収や粘弾性という機能において重要な役割を果たしています。スライド8のように、軟骨はII型コラーゲンとプロテオグリカンという細胞外マトリックスによって、その機能を維持しています。OAではこれらのマトリックスの破壊、それに引き続く修復作用としての合成の亢進が混在して認められています。

我々は特に、軟骨の骨格を形成するII型コラーゲンの代謝に注目して研究を進めてきました。

スライド9のように、従来OAの診断にはX線、関節造影、関節鏡などの画像診断が使用されてきました。これらの手法は進行した病変には有効ですが、初期病変を確実に捉えることは不可能です。最近ではMRIによる軟骨診断も試みられていますが、現存の解像度では限界があると言わざるを得ません。

また、これらの従来の画像診断では、軟骨の代謝状態の把握は不可能でした。

そこで最近では、軟骨や滑膜などの関節組織の代謝状態を反映する関節液や血液中の分子指標、すなわち関節マーカーの測定が行われています（スライド10）

スライド11に示したように、関節マーカーとしてはOAの病態を特異的に反映するものが考えられています。例えば、軟骨マトリックスを構成するプロテオグリカンの断片であるコンドロイチン6硫酸やケラタン硫酸などは、軟骨の破壊を反映するとされています。サイトカインや破壊を行うマトリックスメタロプロテアーゼ等は関節炎症の指標といえます。

我々は従来より、先程述べた Ⅱ型コラーゲンの合成の指標として、関節液中に放出されるpCOL II-C、すなわちコンドロカルシンというものに注目してきました。

スライド 10

**関節マーカー**

関節液、血液中などに存在し、関節の諸病態を反映すると考えられている分子成分

関節マーカー < 軟骨マーカー  
関節炎マーカー

スライド12は Ⅱ型コラーゲンが軟骨細胞から分泌された後の模式図ですが、 Ⅱ型コラーゲンの前駆体であるプロコラーゲンが軟骨細胞外に放出されたあと、図のようなフラグメント（pCOL II-C）が放出されます。このフラグメントの濃度を測ることによって、 Ⅱ型コラーゲンの合成能を評価しようという試みです。

スライド13は人のOA軟骨を、左はトルイジンブルー染色で、右はpCOL II-Cに対する免疫染色をしたものですが、軟骨細胞がよく染色されており、軟骨細胞がpCOL II-Cをリリースすることが明らかです。

スライド14は、縦軸が軟骨中のヒドロキシプロリン

スライド 11

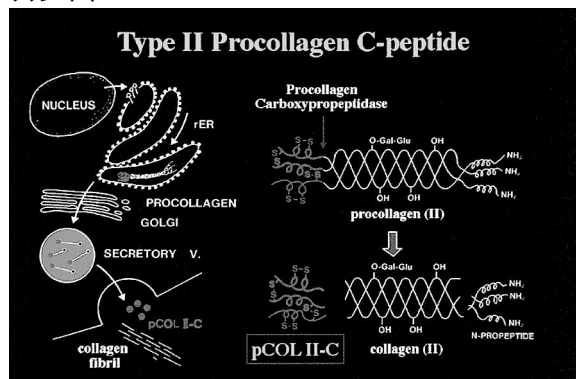
**代表的関節マーカー**

**軟骨マーカー**  
 (分解) コンドロイチン6硫酸(C6S)、ケラタン硫酸  
 (合成) Ⅱ型プロコラーゲンCペプチド(pCOL II-C)

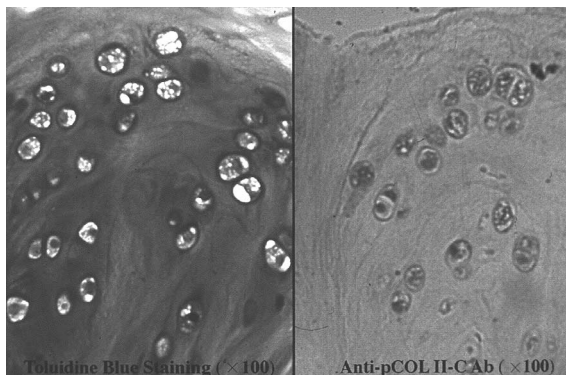
**関節炎マーカー**

サイトカイン	インターロイキン-1、-6、-8
蛋白分解酵素	マトリックスメタロプロテアーゼ(MMP) -1、-2、-3
インヒビター	TIMP -1、-2

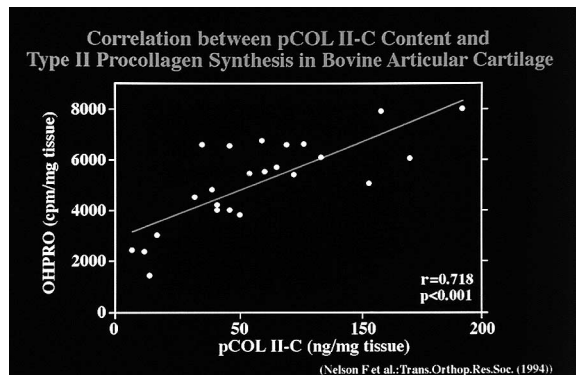
スライド 12



スライド 13



スライド 14



スライド 15

**変形性股関節症 (OA) の  
リスクファクター**

<b>内因性</b>		
性	年齢	肥満
遺伝		
<b>外因性</b>		
職業	外傷(靭帯や半月損傷)	

スライド 16

**肥満と関節液中 pCOL II-C 濃度**

スライド 17

**対象**

一次性膝変形性関節症 (OA)

94例	男性17例
	女性77例

スライド 18

**方法**

肥満評価 : Body mass index

pCOL II-C : EIA

ン産生量、横軸が軟骨中のpCOL II-C濃度ですが、両者はよく相関しています。ヒドロキシプロリンというのはコラーゲンに多量に含まれているアミノ酸ですので、このpCOL II-Cの値は、II型コラーゲンの合成の指標となるということが言えます。

ここからは話を、人間の体の中で最も頻度が高く、そして本研究の対象でもあります膝のOAに限定させていただきます(スライド15)。

一般に膝のOAは、原因を特定しえない一次性と、原因の明らかな二次性に大別されます。現在までに、フラミンガムスタディをはじめとする疫学調査の結果、OAのリスクファクターとしては性、年齢、遺伝などが報告されています。肥満もそうです。また、膝の外傷である十字靭帯損傷とか半月板損傷という膝の損傷についても、外因性のファクターとして重要だとされています。また最近では、II型コラーゲン等の遺伝性の疾患でも、こういう変形性関節症が起こってくるということが報告されています。

以上のリスクファクターのうち、まず我々は、以前より膝OAとの密接な関連が報告されていた肥満につき、II型コラーゲン代謝に与える影響について、検討してみました(スライド16)。

スライド17のように、対象は原因の明らかなでない一次性変形性関節症94例で、内訳は男17例、女77例です。全例、防衛医科大学校で関節鏡を施行し、軟骨変性の程度を直視下に確認した症例を対象としました。

スライド18に示しましたが、評価の方法はBody mass indexを使用し、関節液中のpCOL II-C - すなわちII型コラーゲンの測定については、特異抗体を使用したサンドイッチEIA法によって行ないました。また、全例に対して関節鏡を施行して、関節軟骨の変性程度を直視下に判定しました。

まずOAをX線上のステージで分類して、関節液中のpCOL II-C濃度がいかなる変化を示しているかを比較し

てみました(スライド19)。横軸がOAのステージで、1から5になるにつれてX線上のOAがひどくなるという分類です。縦軸は関節液中のpCOL -C濃度です。その結果として中等度のステージ2から3の変形性関節症で、pCOL -Cが高いということが明らかになりました。

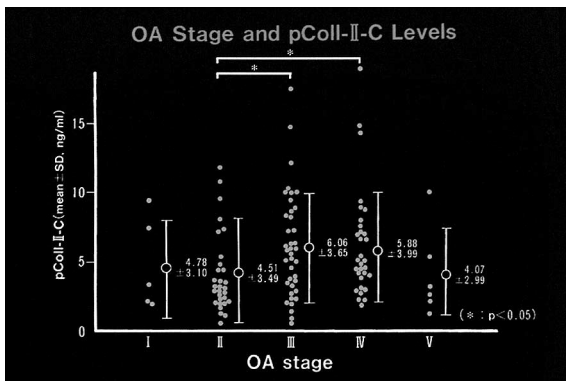
スライド20は、関節鏡で直視下に観察した軟骨損傷の程度と関節液中のpCOL -Cの濃度を比較したものです。縦軸がpCOL -Cの濃度で、横軸が軟骨損傷の程度をポイント化したものです。右の方へ行くにつれて、軟骨の損傷がひどいということです。

その結果、肉眼的な軟骨変性の程度とpCOL -Cはよく相関していました。pCOL -C濃度は、軟骨変性が高度になるにつれて高値を示すことが明らかです。これは、OA変化が高度なほど、軟骨細胞の型コラーゲン合成能が亢進しており、軟骨のいわば修復機転が高まっていることを示しています。

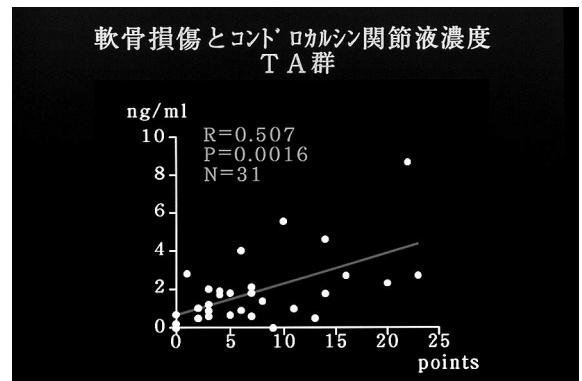
次にBody mass indexと肥満度とですが、スライド21で関節液中のpCOL -C濃度の相関を比較しました。縦軸がpCOL -C濃度、横軸がBody mass indexで、右が肥満が強いということです。その結果、OA群では5%以下の危険率で両者に有意の相関が認められました。これは肥満の大きい患者さんほどpCOL -C濃度が高い、すなわち型コラーゲン合成能が亢進していることを示します。

今回のOA群のうち、X線上の進行度が軽度なステージであるグレードの1・2群を対象を絞ってみると、さらにBody mass indexとpCOL -C濃度との相関は非常に強くなりました(スライド22)。この結果は、グレード1・2の初期のOAでは、肥満の程度が軟骨の代謝、すなわち型コラーゲン合成に、より大きく影響していることを示しています。型コラーゲンの合成亢進はOAの程度と相関することが認められていますので、初期のOAでは、肥満の程度がOAの軟骨変化により密接に影響していることを示す、興味深いデータと考えています。

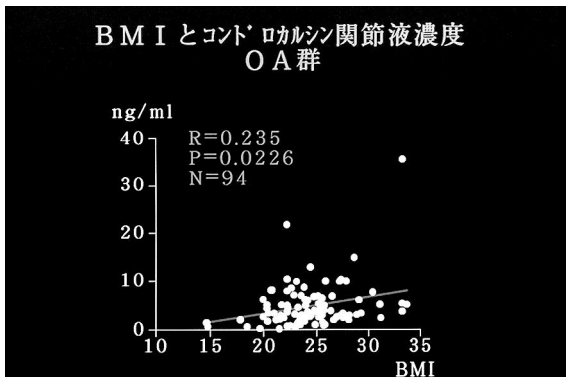
スライド19



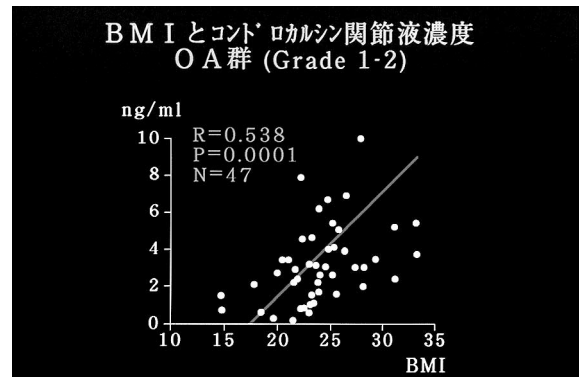
スライド20



スライド21



スライド22



スライド 23

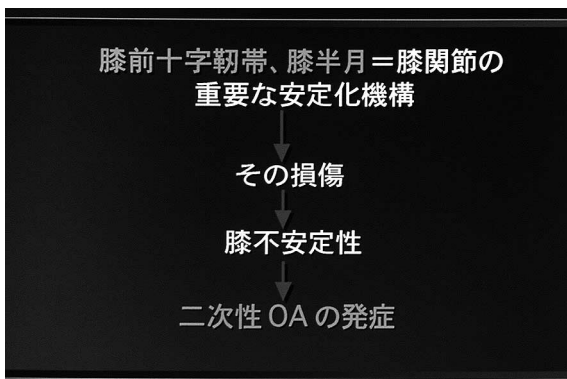
Short summary

一次性膝 OA では、肥満が軟骨 II 型コラーゲン代謝に大きな影響を与えている

スライド 24

膝外傷(十字靭帯損傷、半月損傷)と関節液中 pCOL II-C 濃度

スライド 25



スライド 26

対象

膝前十字靭帯損傷 (ACL)	156 例
膝半月損傷 (MEN)	161 例
一次性 OA (POA)	45 例
健常者 (REF)	23 例
計	385 例

以上の結果をまとめると(スライド 23)、膝の一次性OAでは、肥満が軟骨 II 型コラーゲン代謝に大きな影響を与えているということになります。

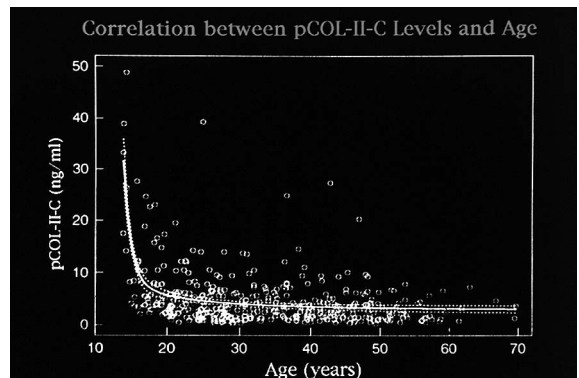
次に二次性のOAのリスクファクターとして重要な、膝の外傷 - 前十字靭帯損傷および半月板損傷の、コラーゲン代謝に対する影響を検討しました(スライド 24)。

スライド 25 に示すように、膝の前十字靭帯、半月板というものは、膝関節の重要な安定化機構で、それが損傷されるということは、膝に不安定性が出るということになり、この結果として、長い間に二次性のOAが発症するということが考えられています。

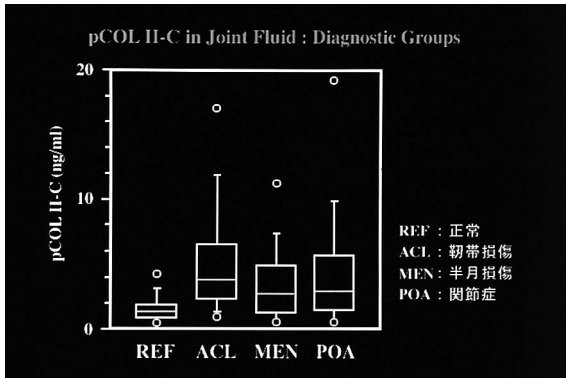
対象は(スライド 26)膝前十字靭帯損傷 (ACL と略します) 156 例、膝の半月板損傷 (MEN と略します) 161 例、一次性OA (プライマリーOA) 45 例、それから健常者 (リファランス) 23 例、計 385 例でスウェーデンのルント大学で採集されたものを対象としました。

スライド 27 の図は、全症例の関節液中の pCOL II-C 濃度と年齢との相関を見たものですが、20 歳以下では pCOL II-C 濃度は有意に高いことが明らかです。これは、成長期には軟骨のコラーゲン合成が亢進している結果であり、20 歳以下の若年者の判定には非常に考慮すべきことだと考えています。

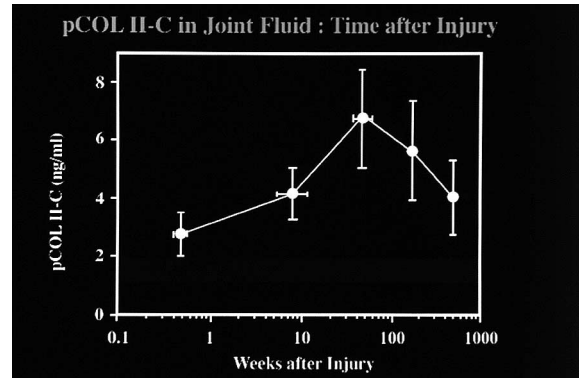
スライド 27



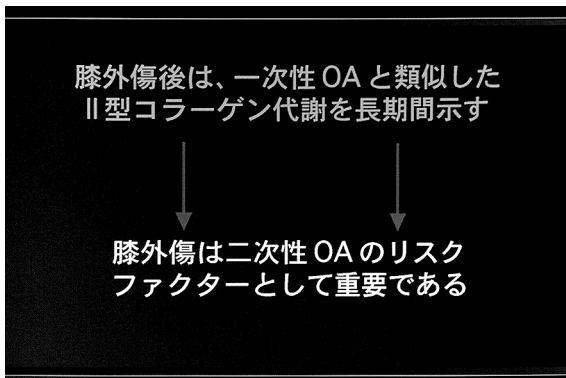
スライド 28



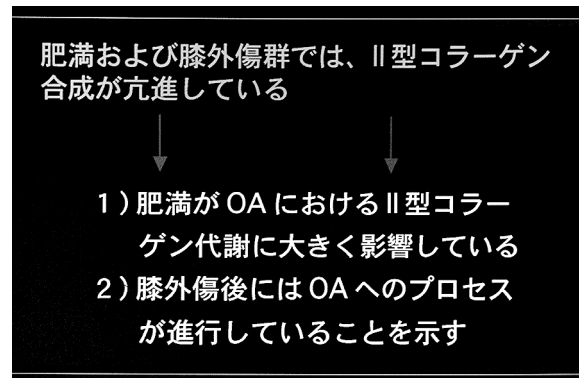
スライド 29



スライド 30



スライド 31



次にスライド 28 で各群の関節液中の pCOL II-C 濃度を示しました。膝の十字靭帯損傷、半月板損傷、それから一次性の OA 群ともに、健常者よりも高値を示すことが明らかでした。この結果は、外傷群でも、一次性 OA とほぼ同等の II 型コラーゲン合成亢進が起きていることを示しました。コラーゲン代謝の観点から、両者は類似した病体を有すると考えられました。

スライド 29 の横軸は膝外傷後の経過週数を log でとったものです。これと関節液中の pCOL II-C 濃度を比較してみました。外傷受傷後、pCOL II-C 濃度は経時的に増加して、約 10 ヶ月頃にピークを示します。その後やや低下しますが、それでも受傷後 8 年頃まで、健常者より高い値をとり続けます。

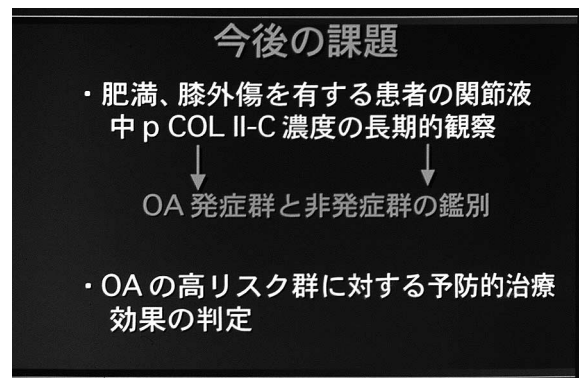
これは一旦靭帯損傷とか半月板損傷などの膝外傷を受けると、その後長期間に亘って軟骨の II 型コラーゲン合成亢進が持続すること、及びそのピークは X 線の OA の発症以前にあるということを示しています。この数年の長期にわたる II 型コラーゲン合成の亢進は、膝外傷後に一次性 OA と同様な軟骨代謝異常が存在することを示していき、膝外傷が二次性 OA の発症に密接に関与していることを示しています。

これらの結果をまとめると (スライド 30) 膝外傷後は一次性 OA と類似した II 型コラーゲン代謝を示す。よって膝の外傷は二次性 OA のリスクファクターとして非常に重要だということが言えます。

以上をまとめると (スライド 31) 膝及び膝外傷群では II 型コラーゲン合成が亢進していました。そういったことは、肥満は OA における II 型コラーゲン代謝に大きく影響しているということ、それから膝外傷後には OA のプロセスが進行しているということを示すと考えられました。

今後は、スライド 32 のように、こういった膝外傷・肥満などを有する患者さんの関節液中の pCOL II-C 濃度

スライド 32



を長期間観察することによって、そういう型コラーゲンの代謝変動したものがOAを発症してくるのか、してこないのかということ、鑑別していきたいと思えます。

またその結果、OAのハイリスク群とわかったものに対して、何らかの予防的治療をして、その効果をpCOL -Cを使って判定してみたいと思っています

以上の研究は、防衛医科大学校整形外科 故 新名 正由教授の企画立案のもとで、スライド33に示すような防衛医大の先生方と、スウェーデンのLund大学のステファン・ロマンダー先生との間の共同研究で行なわれました。

発表を終えるにあたりまして、主研究者の死亡という非常事態に拘わらず、研究の継続をご許可いただきましたファイザーヘルスリサーチ振興財団に改めてお礼申し上げます。

#### 質疑応答

Q：今日の先生のご発表は、早期診断と進行予知ということですが、この病気は一般の病気とちょっと違うと言うか、自然経過というものを考えますと、一つは早期診断というものの意義がそれほど大きくないようにも思いますが。進行予知ということについても、進行していったときに、早期に治療しなかったら大変なことになるといえるけれども、ならないといえなければならないということもあるように思えます。そういう意味では、取って針刺して、関節を抜くのではなく、何か色々な別の方法でも間に合うのではないかと。自覚症状もかなり遅れて出るんでしょうけれども、それから治療を始めても遅くはないのでは。

それからもう一つ、肥満とpCOL -Cとの関係について言われましたが、肥満と言っても成長期からもう肥満している人はそれなりに関節ができていますから、あまり問題はない。しかし例えば相撲取りの曙などは、若い頃はものすごくヒョロッとしていたが、その後あれだけ上部構造を蓄えると、これは当然膝にくるわけです。単に肥満ではなくて、肥満の成り立ち方ということもかなり関係するのではないかと。

それから、先ほど写真が出ていましたが、私自身もO脚なんです。昭和16年生まれで、栄養が悪かったものですから、皆O脚になってしまった。そうするとどうしても内側に荷重が集中するということですが、膝関節と股関節はかなり動態が違いまして、結局、変形性関節症というものは、関節に対して非生理的な荷重がどのように加わるかということによって殆ど決まる。それを結果として、そういうマーカーで早期に動きを観察できるというように考えてよろしいのでしょうか。

A：第1点ですが、この方法でなくても良いのではないかとありますが、OAというものの進行は先生がご指摘なさったように非常に長いので、何とかひどくならないうちに、治療を要する患者さんをピックアップして、集中的に観察していきたいということで、こういう研究を始めました。

第2点の肥満との関係ですけれども、pCOL -Cといえますのは、先ほどグラフを示しましたように、20歳以下の方は非常に高い値を出しまして、20歳以下の方をこのpCOL -Cで判定することはちょっと難しいと思っております。で、成人になってから、肥満による機械的、力学的な障害によって、普通のOAは発症されてくるわけですし、そういう方を、OA発症以前からフォローアップすることによって、何らかの知見があるのではないかと期待して、今長期計画を練ってやっているところです。

Q：肥満そのものは、ホルモンあるいは自律神経の方の影響で、別の経路で直接代謝に影響を与えて...というように、ちょっと伺えたものですから。

スライド33

防衛医科大学校 整形外科

新名正由 小林龍生  
吉原愛雄 菊地寿幸

スウェーデン Lund 大学整形外科

S. Lohmander



A : そうではなくて、機械的なストレス...異常なストレスが局所で働いて、局所でそういう産生機構が起こっているんだというふうに考えたいということなのですが。今回のことは肥満に注目しましたので、機械的ストレスだと考えております。