

関節液マーカーによる変形性股関節症における 軟骨破壊の診断

防衛医科大学校整形外科
山田 治基

[伊丹] では研究報告をこれから行っていただきます。これは一昨年の研究ですが、最初に防衛医科大学校の整形外科の山田治基先生にお願いいたします。

[山田] 報告を始めるにあたりまして、本研究に助成をいただきました財団法人日本股関節研究振興財団理事長伊丹康人先生に心より感謝申し上げます。

はじめに

変形性股関節症（以下、変股症）の診断には単純X線、関節造影をはじめとする画像診断が多用されてきました。変股症は軟骨の破壊を初発病変とする疾患ですが、この軟骨病変を詳細に知る手法として最近では関節鏡やMRIも行われていますが、いずれも侵襲性や解像度の点で問題があるといえます。

近年関節液や血液、尿などの体液中に存在し、関節の諸病態を反映する分子の測定が行われており、これらは関節マーカーと総称されております。代表的な関節マーカーには軟骨の病態を反映する軟骨マーカーと関節炎症を反映する関節炎マーカーに大別されます。

さらに軟骨マーカーはコンドロイチン6-硫酸、4-硫酸のような軟骨マトリックスが分解された断片など、その分解を反映するマーカーと、II型プロコラーゲンCペプチドのようにマトリックス合成を反映するマーカーに分かれます。

一方、関節炎マーカーは軟骨などの組織破壊に関与するインターロイキン1などの炎症性サイトカイン、マトリックス分解を直接行う各種の蛋白分解酵素、及びそのインヒビターなどが考えられております（図1）。

軟骨マトリックスの分解マーカー

われわれはまず軟骨の分解を反映するマーカーとして関節液中のコンドロイチン4、6-硫酸濃度を測定しました。コンドロイチン硫酸はプロテオグリカンのコア蛋白に結合しているグリコサミノグリカンであり、正常軟骨では6-硫酸が主体ですが、変性軟骨では4-硫酸の割合が増加するとされています。このコンドロイチン硫酸はその陰性荷電により大きな保水性を有し、軟骨の粘弾性に大きく貢献している物質であります。

今回手術、または造影時に関節液の採取が

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

図1

可能でありました50例を対象としました。これらを日整会X線判定基準により初期、進行期、末期の3群に分けました。当然病期の進行により平均年齢が上昇しております。

関節液はコンドロイチナーゼABC, AC IIで消化した後、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)により不飽和二糖を測定しました。

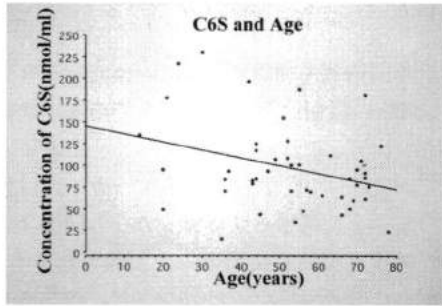


図2

図2は全症例のコンドロイチン6-硫酸濃度と年齢との相関を示したものです。年齢が高くなるにつれてコンドロイチン6-硫酸濃度は有意に低下することが明らかです。この年齢による6-硫酸の低下は加齢による軟骨量の減少、または変性の進行による軟骨マトリックスの割合の減少を反映していると考えています。

一方、コンドロイチン4-硫酸については年齢との有意な相関は認められませんでした。

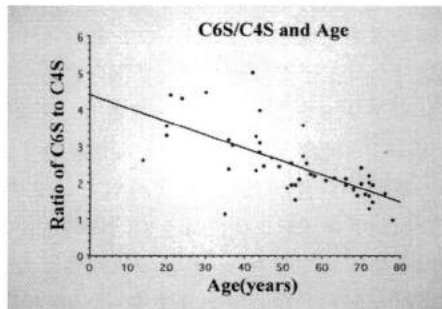


図3

そこでコンドロイチン6-硫酸と4-硫酸の比率をとってみますと、年齢との負の相関が一層強く認められました。やはり加齢による軟骨中の正常マトリックスの割合の減少を示していると解釈しています。一般に関節液中のマーカーについては関節液による希釈やクリアランスによる影響を受けやすいという問題があります。6-硫酸, 4-硫酸両者の比をとることによってこの問題がある程度解決されると考えております。

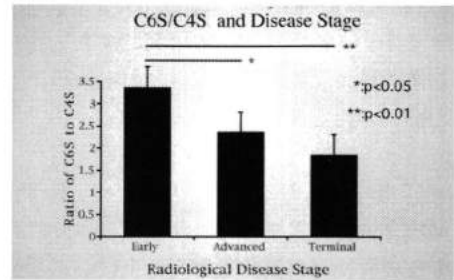


図4

次にX線上の病期とマーカーとの関係を示しました。図4は各病期のコンドロイチン6-硫酸と4-硫酸の比率を示します。病期の進行により、有意な比の低下が認められました。各病期の患者年齢には差がありますので、統計には年齢を共役因子とした共分散分析をもちいましたが、年齢の因子を差し引いても病期との関係は有意性を維持しておりました。なお、病期との有意な相関は6-硫酸, 4-硫酸単独では認められず、両者の比率のみが有用なマーカーであることを示しております。

軟骨の炎症マーカー

次に関節炎マーカーに移ります。変股症における軟骨の破壊は滑膜や軟骨細胞から産生された各種の蛋白分解酵素によって起こると考えられております。蛋白分解酵素の中でも従来コラゲナーゼと呼ばれていた金属系のプロテアーゼの役割が重要視されております。

これらは現在ではMatrix metalloproteinase、略してMMPと総称されております。

表1

OAの軟骨マトリックス破壊に關する MMPs	
酵素名	基質
MMP-1(間質性コラーゲナーゼ)	I, II, III, X型コラーゲン
MMP-2(グラーチナーゼA)	ゼラチン, IV, V, VI, XI型コラーゲン ラミニン, フィブロネクチン
MMP-3(ストロモライシン-1)	アグリカン, III, IV, VII型コラーゲン ラミニン, フィブロネクチン
MMP-9(グラーチナーゼB)	ゼラチン, III, IV, V, XI型コラーゲン エラスチン
MMP-13(コラーゲナーゼ-3)	I, II, III型コラーゲン フィブロネクチン

現在までに変形性関節症の軟骨破壊に關するとされているMMPは表1に示すようなものがあります。MMP-1および13はコラーゲナーゼであり、軟骨マトリックスの主要な構成要素であるII型コラーゲンを主とするマトリックスを特異的に分解します。MMP-2および9はゼラチナーゼと呼ばれ、コラーゲンがコラーゲナーゼにより分解した後に熱変性して生じるゼラチンを分解します。MMP-3はストロモライシンとも呼ばれ、軟骨粘弾性のもとであるプロテオグリカンの分解に關すると考えられております。

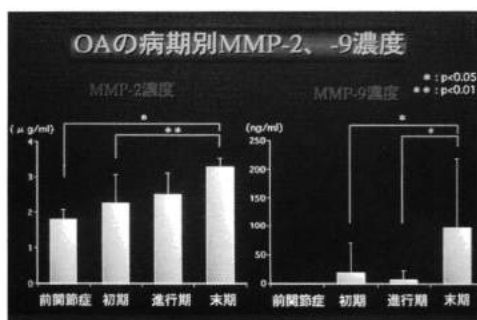


図5

図5は股関節液中のMMP-2およびMMP-9の濃度をサンドイッチEIAにより測定した結果です。病期の進行により、MMP-2濃度が上昇していくことが明らかです。またM

MP-9濃度は股関節液では全体的に低値でしたが、やはり末期変股症で有意に高値を示しました。病期の進行により蛋白分解酵素によるマトリックス破壊活性が上昇していると考えています。

一方MMP-3およびMMP-8の股関節液中濃度を示します。膝OAのデータと違い、予想に反して股関節液を使用した実験ではMMP-3と病期の間に有意な相関は認められませんでした。MMP-8は好中球コラーゲナーゼとも呼ばれるMMPであり、軟骨細胞での産生も報告されていますが、病期との明らかな関係はありませんでした。

これらのMMPは単独でマトリックス破壊に働くのではなく、複雑なEnzyme cascadeを構成していると考えられています。今回の検討では病期との有意な関係を示しませんが、MMP-3は他のMMP-1、8、9などの活性化作用を有し、このcascadeの中心に存在すると考えられています。またMMP-2の活性化には新しく発見された膜型のMMP、MT-MMPが關するとされています。

ただし、実際のOAにおいてどのような酵素が作用してマトリックス破壊が起こっているのかはまだ議論の余地があります。たとえばプロテオグリカンの分解に際しては従来、主役を果たすと考えられてきたMMP-3はコア蛋白のうちのアミノ酸配列341番目と342番目を分解しますが、OAの関節液中での実際のコア蛋白断片を検討した結果、別の部位で切られていることが報告されております。この部位でのコア蛋白の切断を行う酵素はアグリカナーゼと命名されていますが、その実態はいまだ明らかではありません。

おわりに

以上、股関節液中の各種マーカーによる軟骨破壊の診断についての研究結果をご報告しました。これらのマーカーはOAの病期診

断、すなわち残存軟骨の量を知ることにより、どの時点まで骨切り術が可能かなどの治療法の選択にも有用と考えています。またその他にもOAの予後の判定、それからこれから開発が本格化すると思われるOAの治療薬の薬効判定などにも有用と考えており、さら

に症例を重ねて研究していきたいと考えています。

【伊丹】ありがとうございました。特に何か質問ありましたら。ではごさいませんようですから、どうもありがとうございました。