

論文内容要旨

Role of vasoactive intestinal peptide in the progression of osteoarthritis through bone sclerosis and angiogenesis in subchondral bone

(変形性関節症の進行における血管作動性腸管ペプチドが軟骨下骨の骨硬化と血管新生に与える影響)

Journal of Orthopaedic Science, 2020, in press.

主指導教員：安達 伸生教授

(医歯薬保健学研究科 整形外科学)

副指導教員：大段 秀樹教授

(医歯薬保健学研究科 消化器・移植外科学)

副指導教員：亀井 直輔准教授

(医歯薬保健学研究科 整形外科学)

金光 宗一

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

目的：変形性関節症(OA)は軟骨だけでなく軟骨下骨にも影響を及ぼす進行性の関節障害である。軟骨下骨は軟骨代謝に重要な役割を果たしており、OAの進行に伴う軟骨下骨のリモデリングが注目されている。骨は血管や神経によりその恒常性は維持されており、感覚神経は骨のリモデリングに重要な役割を果たしている。Vasoactive intestinal peptide (VIP)は神経ペプチドの一種であり、骨代謝にも関連している。本研究の目的はVIPと変形性関節症の進行との関係を調べることである。

方法：人工膝関節置換術の際に骨切りした脛骨から切片を作製し、軟骨と軟骨下骨でVIPの発現とOA進行度の関連をmicro Computed Tomography(CT)による骨密度・骨形態解析と組織学的評価(Safranin-0染色,免疫染色)にて評価した。Human Umbilical Vein Endothelial Cells(HUVEC)を用い、VIP receptor agonist投与群と非投与群を作製し、培養開始から12時間後にtotal lengthとbranch pointを計測し、評価を行った。

また、10週齢のC57/BL/6マウスを使用し、surgical destabilization of the medial meniscusマウス(DMMマウス)を作製した。手術の際に腹腔内に生理食塩水(PBS)を投与したものをコントロール群とVIP receptor antagonist(N-terminal Lys-Pro-Arg-Arg-Pro-Tyr followed by 7-28 residues VIP)を投与したVIP receptor antagonist群を作製、術後4週、8週で屠殺し、検体を採取した。採取した検体はmicro CTによる骨密度・骨形態解析と組織学的評価(Safranin-0染色,免疫染色)を行い評価した。

結果：ヒト脛骨サンプルにおいて、軟骨下骨でのVIP発現はOAが進行するにつれて、増加していた。また、OAが進行したサンプルでは神経血管束が軟骨下骨を越え、軟骨層へ浸潤しているのが認められた。また、同部位ではVIPの発現が認められた。HUVECを用いた実験ではVIP receptor agonist投与群は非投与群と比較して、total lengthとbranch pointともに有意に増大していた。

DMMマウスのmicro CTによる骨密度・骨形態解析ではVIP receptor antagonist群はコントロール群と比較してBone Volume/Tissue Volumeが有意に低下していた。また組織学的評価ではVIP receptor antagonist群はコントロール群よりもInternational Cartilage Repair Society(ICRS) scoreが有意に低く、軟骨でのMatrix metalloproteinase 13、a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 5の発現も有意に減少しており、OA進行が抑制されていた。また、軟骨下骨ではVIPおよびOsteocalcinの発現は有意に減少し、Tartrate-Resistant Acid Phosphatase陽性細胞は有意に増加していた。

考察・結論：軟骨下骨は軟骨の恒常性維持において、重要な役割を果たしているとされ、硬化した軟骨下骨は、軟骨の恒常性を維持することが出来なくなり、OA進行の原因となる。VIPは骨芽細胞分化を促進し、破骨細胞分化を抑制する作用を有し、骨形成を促進すると報告されている。本研究より、軟骨下骨でのVIPの発現はOA進行により増加しており、軟骨

下骨の骨硬化および血管新生への関与が示唆された。また、マウスにおいて VIP receptor antagonist を投与することにより軟骨下骨の骨硬化を抑制し、OA の進行を抑制することが可能であった。VIP は、軟骨下骨の骨硬化と血管新生に関与し、OA の進行の原因と考えられた。VIP シグナル阻害薬は、軟骨下骨の骨硬化と血管新生を抑制し、軟骨下骨の状態を維持することで、OA 進行を防ぐための治療薬になる可能性が示唆された。