

学 位 論 文 要 旨

氏 名 大橋 慶久



論 文 題 目

「 **Correlation between CD163 expression and resting pain in patients with hip osteoarthritis:
Possible contribution of CD163+ monocytes/macrophages to pain pathogenesis** 」

(変形性股関節症患者における滑膜 **CD163** 陽性マクロファージサブセットの
疼痛病態への関与の検討)

指 導 教 授 承 認 印

高相 晶 士



**Correlation between synovial CD163 expression and resting pain
in patients with hip osteoarthritis: Possible contribution of CD163+
macrophage subsets to pain pathogenesis**

(変形性股関節症患者における

滑膜 CD163 陽性マクロファージサブセットの疼痛病態への関与の検討)

氏 名 大橋 慶久

(以下要旨本文)

【背景】超高齢社会を迎えたわが国において変形性股関節症(股 OA)の患者数は年々増加しており、300 万人にのぼると推定されている。股関節は人体最大の荷重関節であり、股 OA による疼痛は患者の生活の質や日常生活動作を著しく低下させる。しかしながら、その疼痛発生機序は明らかになっていない。近年、股 OA における疼痛に滑膜マクロファージ(MΦ)の関与が報告されている。炎症(M1)や抗炎症・組織修復(M2)に関与する種々の MΦ サブセットが報告されているが、股 OA 疼痛と関連する滑膜 MΦ のサブセットや表現型は分かっていない。MΦ のスカベンジャー受容体である CD163 は、M2 マーカーとして知られる。変形性膝関節症においては、滑液中の CD163 濃度と、X 線学的重症度との間に正の相関関係が報告されている。しかしながら、CD163 陽性(+)MΦ と股 OA 疼痛との関連性や CD163+MΦ を介した疼痛機構は分かっていない。そこで本研究では、股 OA 患者における滑膜 CD163+MΦ および、そのサブセットの疼痛病態への関与を明らかにすることを目的とした。

【方法】 一次性および寛骨臼形成不全に伴う二次性の股 OA の診断で人工股関節置換術を行った 98 例を対象とした。関節リウマチ、特発性大腿骨頭壊死症、急速破壊型股関節症、外傷に伴う二次性の股 OA は除外した。全例で、前外側アプローチで手術を行い前方関節包に裏打ちされた充血滑膜組織を採取し、実験検体として使用した。

実験① 72 例は Real-time PCR 法を用いて *CD163* (mRNA) の発現を調査し、Visual Analog Scale (VAS) で評価した術前の安静時痛および活動時痛の程度との相関関係を調査した。さらに、Tönnis 分類で評価した X 線学的股 OA 重症度との関連を調査した。

実験② 10 例は Magnetic isolation 法を用いて CD163+ および CD163- 細胞分画に細胞分離を行い、各分画における MΦ サブタイプマーカーや炎症性サイトカインの発現を Real-time PCR で調査した。

実験③ 8 例は Flow cytometry 法を用いて CD163+MΦ におけるサブセット解析を行った。

実験④ 8 例は Cell sorting 法を用いて実験③で得られた各サブセットが発現する MΦ サブタイプマーカーおよび炎症性サイトカインの発現を Real-time PCR で調査した。

【統計手法】 Spearman の順位相関係数を用いて、股 OA 患者における安静時および活動時の疼痛レベルと *CD163* の発現レベルとの間の相関関係を調査した。相関係数は ρ で表した。股 OA 重症度に基づく *CD163* 発現レベルの比較は、Mann-Whitney U 検定を用いて行った。CD163+ と CD163- 細胞分画および CD163+ MΦ における各サブセット間での遺伝子発現の比較は、Shapiro-Wilk 正規性検定に従う変数は対応のある t 検定、従わない変数は Wilcoxon signed-rank 検定を使用した。すべての統計学的解析は SPSS ソフトウェア (バージョン 26.0 ; IBM) を用いて行った。統計学的有意水準は $p < 0.05$ とした。

【結果】 各実験における患者背景因子(性別比、年齢、身長、体重、Body mass index、股 OA 重症度、安静時痛 VAS、活動時痛 VAS) に有意差はなかった。*CD163* の発現と安静時痛 VAS との間に有意な正の相関関係を認めた ($p = 0.006$, $\rho = 0.321$)。活動時痛 VAS

とは有意な相関関係はなかった($p=0.155$, $p=0.169$)。X線学的股OA重症度別のCD163発現の比較では有意な差を認めなかった。CD163+細胞分画におけるCD14, CD206, IL10, TNFA および IL1B の発現は CD163-細胞分画よりも有意に高かった(CD14, $p=0.015$; CD206, $p=0.014$; IL10, $p=0.005$; TNFA, $p=0.002$; IL1B, $p=0.001$)。一方で、IL5 および IL6 の発現は CD163-細胞分画で有意に高く(IL5, $p=0.013$; IL6, $p=0.002$)、TGFB, IL12 および IL17 の発現は両分画間で有意差はなかった。Flow cytometry では、異なるサブセットである CD163+CD14^{low} と CD163+CD14^{high} の存在を認めた。両サブセットともに、大部分が CD206+細胞であった。Cell sorting では、CD163+CD14^{low} サブセットにおける TNFA の発現が CD163+CD14^{high} サブセットと比較して有意に高かった(TNFA, $p=0.012$)。その他のMΦサブタイプマーカーおよび炎症性サイトカイン発現に両サブセット間で有意差はなかった。

【考察および結論】本研究では、股OA滑膜におけるCD163の発現と安静時痛との関連を示した。さらにCD163+MΦ、特にそのサブセットであるCD163+CD14^{low}はTNFAを高発現していた。CD163はM2マーカーとして知られ、M2a, M2b および M2c の3つのサブタイプが存在し、特にM2bは炎症に関与するとの報告が散見される。本研究の結果から、CD163+CD14^{low} サブセットはM2b様の表現型を有している可能性がある。また、われわれはこれまでに、股OA患者における安静時痛は、疼痛感作と関連することを報告している。TNF- α の発現上昇は侵害受容器の感受性を亢進させ、末梢性感作に寄与すると報告されている。以上から、TNF- α を高発現するCD163+CD14^{low} サブセットは、股OAにおける疼痛感作の病態に関与している可能性がある。