

学位論文

Expression of calcitonin gene-related peptide in the
infrapatellar fat pad in knee osteoarthritis
patients.

(変形性膝関節症患者の膝蓋下脂肪体における
Calcitonin gene-related peptide の発現)

DM 14001 相川 淳

北里大学大学院医療系研究科医学専攻博士課程
臨床系医科学群 整形外科学
指導教授 高相 晶士

著者の宣言

本学位論文は、著者の責任において実験を遂行し、得られた真実の結果に基づいて正確に作成したものに相違ないことをここに宣言する。

【背景】膝蓋下脂肪体 (infrapatellar fat pad; IPFP)は膝関節前面に存在しており、周囲を滑膜組織に被覆されている。近年、TNF- α や IL-6 といった炎症性サイトカインを放出し、変形性膝関節症 (膝 OA) の進行と疼痛に関与していると報告されている。また、IPFP には後脛骨神経より分枝する神経線維が豊富に存在し、関節包や滑膜組織と同様に膝関節内の疼痛を感じる組織の一つであると報告されている。Clements KM らは anterior knee pain の疼痛源の一つであるとして、Scott F らは無麻酔下、自分で関節鏡検査を行い、痛みを感じる組織として滑膜組織と併せて膝蓋下脂肪体を挙げている。

一方、カルシトニン関連遺伝子ペプチド (Calcitonin gene-related peptide; CGRP) は Calcitonin receptor-like receptor, Receptor activity-modifying protein 1 と結合する血管拡張作用を有する神経ペプチドであり、関節組織における CGRP の上昇は OA の疼痛に関与する可能性が示唆されている。例えば、股・膝 OA における関節包や半月板には CGRP 陽性神経線維が相対的に増加していることや、膝 OA 患者の滑膜組織において CGRP 発現は増加し、炎症や OA の進行に関与することが報告されている。

しかし、膝 OA 患者の IPFP における CGRP 発現およびその制御機構については明らかになっていない。本研究の目的は膝 OA 患者の IPFP における CGRP の局在と発現およびその制御機構を明らかにし、滑膜組織と比較し検討することである。

【方法】人工膝関節全置換術を施行した膝 OA 患者 100 名より、IPFP および滑膜組織を採取 (内訳; 男性 23 名、女性 77 名 年齢; 46-89 歳 Body mass index; 18.2-36.7 kg/m² Kellgren/Lawrence (K/L) OA grade ; grade 2; 2 名 grade 3; 40 名 grade 4; 58 名) した。免疫組織化学染色により IPFP と滑膜組織におけ

る CGRP の局在を検討し、Real time PCR 法を用いて IPFP および滑膜組織の CGRP、Cyclooxygenase-2 (COX-2) の mRNA 発現、CGRP、COX-2 の相関について検討した。また CGRP、COX-2 mRNA 発現と OA grade との関連性について検討した。IPFP をコラゲナーゼ処理し、脂肪細胞および間質血管細胞群を採取した。1 週間培養後、10 μ M の Prostaglandin E2 (PGE2)による刺激を行った。

【結果】免疫組織化学染色において CGRP は滑膜組織では滑膜表層に局在したのに対して、IPFP では毛細血管周囲に局在した。Real time PCR 法による膝 OA 患者における CGRP の mRNA 発現は滑膜組織に比較し有意に IPFP において高く ($p<0.001$)、COX-2 についても同様に滑膜組織に比較し有意に高い ($p<0.001$) 結果となった。膝 OA 患者の IPFP における COX-2 と CGRP の mRNA 発現について正の相関を認めた。K/L OA grade と CGRP の関係について、grade 2 と比較し grade 3 では 1.5 倍、grade 4 では 2 倍の発現量を認めた。また、COX-2 については grade 2 と比較し grade 3 では 1.4 倍、grade 4 では 1.7 倍の発現量であった。PGE2 刺激により脂肪細胞、間質血管細胞群における CGRP の発現はそれぞれ 4.1 倍、13.2 倍に増加した。

【考察】これまでに臼蓋形成不全股関節症や変形性関節症の滑膜表層に CGRP 陽性細胞が存在すると報告されていた。本研究では膝 OA 患者の IPFP において脂肪組織の毛細血管周囲に CGRP 陽性細胞を認めた。また IPFP において滑膜組織と比較し有意に CGRP 発現量が高かったことから、IPFP は OA 患者の膝関節内における主要な CGRP 産生源の一つである可能性が示唆された。

IPFP は皮下脂肪組織に比較し TNF- α や IL-6 などのいくつかの炎症性サイトカインを多く分泌することが報告されている。一方で、CGRP は滑膜免疫細胞や上皮細胞、神経細胞において TNF- α や IL-1 β 、PGE2 により調節されている

と報告されている。また、Minatani らは、PGE2 が培養滑膜細胞において CGRP 発現を刺激することを報告している。膝 OA 患者より採取した IPFP において CGRP と COX-2 の発現に正の相関を認めたこと、PGE2 刺激により脂肪細胞、間質血管細胞群における CGRP の発現が増加したことから、COX-2/PGE2 経路が CGRP 産生を制御していることが示唆された。

OA 患者の CGRP 発現量の増加が OA の進行と疼痛に影響することが示唆されている。OA 患者の CGRP 発現量は K/L grade や疼痛スコアと有意に相関する。本研究でも IPFP における CGRP 発現量は K/L grade 2 の患者と比較し、grade 4 の患者では 2 倍の発現を認め、OA の進行との関連が示唆された。しかし、本研究では grade 2 の患者数が少なく、また健常群を欠くため、CGRP と OA の進行についてはさらなる研究が必要である。

膝 OA 患者と非膝 OA 患者の IPFP における CGRP 発現との比較がされていないこと、IPFP における CGRP 発現は滑膜に比較し有意に高い結果となったが、CGRP と疼痛スコアの相関について研究されていないことが本研究の Limitation として挙げられる

【結語】膝 OA 患者の IPFP は関節組織における主要な CGRP 産生源の一つであり、その発現は COX-2/PGE2 経路によって調整されている可能性が示唆された。

目次

	頁
1. 序論	1
2. 方法	
2-1. 患者	2
2-2. 免疫組織化学染色	3
2-3. Real time PCR	3
2-4. 脂肪細胞、間質血管細胞群の採取	4
2-5. 統計学的分析	4
3. 結果	
3-1. OA 患者の IPFP ならびに SYN における CGRP の局在	5
3-2. OA 患者の IPFP ならびに SYN における CGRP と COX-2 発現	5
3-3. OA 患者の IPFP における CGRP と COX-2 発現の相関	5
3-4. K/L グレード間における CGRP と COX-2 発現の相関	6
3-5. 脂肪細胞、間質血管細胞群における CGRP 発現に対する PGE2 の影響	6
4. 考察	6
5. 総括	8
6. 今後の課題	8
7. 謝辞	8
8. 引用文献	9
9. 業績目録	13
10. 図表	21

1.序論

変形性膝関節症（OA）患者は、軟骨変性および関節痛を中等度から重度まで含むことが多い。滑膜組織（SYN）(1-3)、関節包(4)および半月板(5-7)を含むいくつかの関節組織が、OA および OA 疼痛の発症に関与していることが示唆されている。しかし、OA の病態については明らかになってない。

膝関節前方に位置し、滑膜組織に囲まれた膝蓋下脂肪体（IPFP）は、OA の進行または疼痛に寄与し得る(8-9)。IPFP はまた、OA 発生に寄与する腫瘍壊死因子（TNF- α ）およびインターロイキン-6（IL-6）を含む多くの前炎症性サイトカインを分泌する(10-12)。さらに、IPFP は、特に痛みに敏感であり、後脛骨神経に由来する神経線維によって豊富に神経支配される(13)。これらの神経線維は、侵害受容性であり、多くの神経調節物質を産生するペプチド作動性 C 線維を含む(14)。さらに、人工膝関節全置換術後に膝関節痛を有する患者は、しばしば IPFP の感覚神経数が増加し(15)、IPFP が膝関節の感覚神経支配の終点を供給することを示唆している。したがって、IPFP における OA 関連分子の発現および調節のより良い理解は、OA 発生および膝関節痛に対するこの構造の寄与を明らかにする可能性がある。

関節組織に見出される分子の中には Calcitonin receptor-like receptor (CLR) と Receptor activity-modifying protein 1 (RAMP1) に結合する血管拡張性神経ペプチド、カルシトニン遺伝子関連ペプチド(Calcitonin gene-related peptide; CGRP) がある(16)。いくつかのヒト関節組織における CGRP 発現量は、OA による疼痛および OA 発生の強度と関連している(4, 5, 17-19)。例えば、CGRP 陽性神経線維は、膝および股関節 OA 患者の半月板および関節包にそれぞれ相対的に増加する(4, 5)。CGRP 発現はまた、膝 OA 患者の SYN において増加し、炎症、OA の発生および疼痛におけるこの分子の関与を示唆している(17-19)。し

かしながら、現在までに、IPFP における CGRP 発現は、ヒト OA 患者において研究されていない。

本研究では、100 人の膝 OA 患者の IPFP における CGRP の局在および発現量を明らかにすることを目的とした。IPFP における CGRP 発現量を SYN と比較して、IPFP が OA 患者の関節組織における主要な CGRP 産生源であるかどうかを評価した。

2.方法

2-1. 患者

本研究は、北里大学倫理審査委員会 (KME0 B13-113) の承認を得て行った。全ての試験参加者に対して滑膜組織の採取および使用に関するインフォームドコンセントを実施した。十分なサンプルサイズを決定するために、G * POWER³ で有意水準 0.05 と検定力 0.80 としてパワーナリシスを実施した。パワーアナリシスにより、SYN と IPFP との間の差異を検出するために、CGRP については 64 サンプル、シクロオキシゲナーゼ-2 (COX-2) については 97 サンプルが必要であることが判明した。したがって、100 人の患者からデータを収集した。研究対象集団は、23 人の男性と 77 人の女性 (年齢範囲= 46~89 歳、平均±標準偏差 (SD) = 73.3±0.8 歳、Body mass index (BMI) : 範囲= 18.2~36.7、平均±SD = 25.8±0.4 kg/m²)、単純 X 線学的膝 OA 評価 Kellgren Lawrence grade (K / L grade) は、grade 2, 2 名 (2/100 , 2%)、grade3, 40 名 (40/100 , 40%)、grade4, 58 名 (58/100 , 58%) であった。研究参加者は 2015 年 3 月から 2017 年 1 月までの間に、当施設で人工膝関節全置換術を受けた患者を対象とした。手術前にすべての対象からこの試験への参加の同意は得られた。手術中に、IPFP および SYN をそれぞれの膝から採取した。採取した IPFP および SYN のサン

プルの一部を、RNA 抽出に必要となるまで-80℃で液体窒素中に直ちに凍結させた。また、組織学的分析のために残りの組織を 4%パラホルムアルデヒドホルマリン中で 48 時間固定した。

2-2 免疫組織化学染色

パラホルムアルデヒド固定した IPFP および SYN のサンプルをパラフィンに包埋し、厚さ 3 μ m の切片にスライスし、キシレンを用いて脱パラフィンした。切片を CGRP に対するマウスモノクローナル一次抗体 (Abcam) と 4℃で 6 時間、反応させた。さらに 切片を、Alexa Fluor 594 ヤギ抗マウス IgG 二次抗体 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) とともに室温で 1 時間インキュベートした。一次抗体を含まない血清中でインキュベートした切片を Negative control として使用した。蛍光染色された切片を蛍光顕微鏡 (Axiovert 200, Zeiss, Jena, Germany) を用いて視覚化した。

2-3. Real time PCR (RT-PCR)

IPFP および SYN からの total RNA 抽出および cDNA 合成は、以前に記載されている方法で行った(18)。RT-PCR 法のために使用した PCR プライマーのペアシーケンスは以下の通りである。

CGRP

CGRP-FWD(5'-TTGCCCAGAAGAGCCCCTGTG-3')

CGRP-REV(5'-TT GTTCTTCACCACCCCCCTG-3')

COX-2

COX-2-FWD (5'-TGGCTGAGGGAACACAA CAG-3')

COX-2-REV(5'-AACAACTGCTCATCACCCCA-3')

GAPDH

GAPDH—FWD (5 'TGTTGCCATCAATGACCCCTT-3')

GAPDH-REV (5 CTCCACGACGTACTCAGCG-3 ')

増幅産物の特異性を調べるために 解離曲線解析を使用した。CGRP および COX-2 の相対的なメッセンジャーRNA (mRNA) 発現レベルを、CFX-96 リアルタイム PCR 検出システム (Bio-Rad, CA, USA) を用いた定量的 PCR によって検討した。CGRP および COX-2 の mRNA 発現は、ハウスキーピング遺伝子 GAPDH で補正した。さらに、CGRP および COX-2 の mRNA 発現レベルを IPFP と SYN、および K / L grade 2~4 の個体間で比較した。

2-4. 脂肪細胞、間質血管細胞群の採取

PGE2 による CGRP の制御を検討するために、脂肪細胞 (Adipocyte, Ad)、IPFP から間質血管細胞群 (stromal vascular fraction, SVF) を採取した。IPFP を 37℃ の 1 mg/mL コラゲナーゼ溶液で 2 時間処理し、細胞を採取した。細胞懸濁液を 180G で 5 分遠心後、脂肪細胞層を採取し、25 cm² フラスコに播種し、天井培養を行った。残存した細胞懸濁液を 300G で 10 分遠心し SVF を採取した。10 日間培養後、Ad, SVF における脂肪細胞マーカー (Acrp30, PPAR- γ)、血管内皮細胞マーカー (CD31)、間質細胞マーカー (CD90, CD105) の発現を real time PCR を用いて検討した。Ad, SVF を 10 μ M PGE2 (Cayman Chemical, Ann Arbor MI, USA) で刺激後、RT-PCR を用いて CGRP の発現を検討した。

2-5. 統計学的分析

IPFP および SYN 間の CGRP および COX-2 発現の差異を、paired *t* 検定を用いて比較した。CGRP と COX-2 発現との間の相関関係はピアソン相関係数

を用いて評価した。線形回帰係数分析に影響を与えた可能性のある統計的外れ値は、Cook's distance statistical test を使用して同定した。全ての統計分析は、SPSS ソフトウェア (19.0; SPSS, Chicago, IL, USA) を用いて行った。直線回帰係数分において p 値 <0.01 を統計学的に有意であるとした以外は、 p 値 <0.05 をすべての分析について統計的に有意であると考えられた。

3. 結果

3-1. OA 患者の IPFP ならびに SYN における CGRP の局在

人工膝関節全置換術の手術中に採取された OA 患者の IPFP 組織における CGRP の局在を調べるために、免疫組織化学分析を行った (図 1)。SYN を比較対象とした (図 1)。免疫染色は、CGRP タンパク質が IPFP の毛細血管周囲 (図 1A-C) および SYN の滑膜表層に局在することを明らかにした (図 1D-F)。Negative control では免疫染色は観察されなかった。

3-2. OA 患者の IPFP ならびに SYN における CGRP と COX-2 発現

膝 OA 患者の IPFP および SYN における CGRP および COX-2 の発現を、RT-PCR によって比較した (図 2)。CGRP 発現は、SYN よりも IPFP において有意に高かった (図 2A)。COX-2 の発現もまた、SYN と比較して IPFP において有意に高かった (図 2B)。

3-3. OA 患者の IPFP における CGRP と COX-2 発現の相関

OA 患者の滑膜において CGRP と COX-2 発現レベルとの相関が示されている (18)。さらに、COX-2 の酵素産物である Prostaglandin E2 (PGE2) は、滑膜における CGRP 発現を刺激することが示されている (18)。IPFP における

COX-2 による CGRP 調節の可能性を調べるために、OA 患者の IPFP における CGRP および COX-2 発現レベルを測定した（図 3）。1 つの検体で IPFP において CGRP 発現が外れ値であったため、分析から除外した。結果、COX-2 mRNA 発現は IPFP における CGRP 発現と正の相関を認めた（図 3）。

3-4. K/L grade 間における CGRP と COX-2 発現の相関

OA 患者の K / L grade 間の CGRP と COX-2 発現との関係を調べるために、K / L grade 2～4 の個体における CGRP および COX-2 発現を分析した。CGRP 発現は K / L grade 2 と比較して、grade 3 では 1.5 倍、4 では 2.0 倍、それぞれ高かった（図 4A）。また、COX-2 の発現は、K / L grade 2 と比較して、grade 3 および 4 では、それぞれ 1.4 倍および 1.7 倍高かった（図 4B）。

3-5. 脂肪細胞、間質血管細胞群における CGRP 発現に対する PGE2 の影響

Ad では脂肪細胞マーカー（Acrp30, PPAR- γ ）の発現は SVF に比べ優位に高かった。SVF における血管内皮細胞マーカー(CD31), 間質細胞マーカー(CD90, CD105)の発現は Ad に比べ有意に高かった（図 5）。PGE2 刺激により脂肪細胞、間質血管細胞群における CGRP の発現はそれぞれ 4.1 倍、13.2 倍に増加した（図 6）。

4. 考察

膝 OA 患者の IPFP では、毛細血管周囲に CGRP 陽性細胞が観察された。特に、IPFP および SYN とともに CGRP および COX-2 発現の間に正の相関を認めたが、IPFP における CGRP および COX-2 の発現は、SYN に比較して有意に高値であった。また、PGE2 刺激により Ad, SVF における CGRP の発現は有意

に上昇した。この結果より IPFP が OA 患者の関節組織における CGRP の供給源であり、CGRP の発現は COX-2/PGE2 により制御されていることを示唆している。

これまでの研究では、CGRP 陽性細胞が、股関節の臼蓋形成不全および膝 OA 患者の滑膜表層に存在することが報告されている(18, 20)。以前の報告(18)と一致して、CGRP は膝 OA 患者の滑膜表層に局在していた。一方、膝 OA 患者の IPFP の毛細血管周囲においても CGRP 陽性細胞が認められた。特に、IPFP における CGRP 発現は、SYN よりも有意に高く、これらの結果は、IPFP が関節組織における CGRP 産生の源である可能性を示唆している。

IPFP は、自己皮下脂肪組織 (SCAT) と比較して著しく高いレベルで、TNF- α および IL-6 を含むいくつかの炎症性サイトカインを分泌する(11,12)。CGRP 発現は、滑膜(18)、免疫(21-23)、上皮(24)および神経細胞(25,26)のようないくつかの細胞型において TNF- α 、IL-1 β および PGE2 によって調節される。PGE2 は、培養滑膜細胞において CGRP 発現を刺激することが示されている(18)。本研究において、OA 患者の膝から採取した IPFP においても、CGRP と COX-2 発現との間の相関関係が検出された。また、PGE2 刺激により Ad, SVF における CGRP 発現が上昇し、この上昇は SVF で顕著であった。このことから COX-2/PGE2 経路が IPFP、特に SVF における CGRP 発現を調節している可能性が示唆された。

OA 患者における CGRP 発現量の上昇は、OA 発症または OA 疼痛の増加をもたらすことが示唆されている(4,5,17)。OA 患者における CGRP 発現量は、K/L grade および疼痛スコアと有意に相関している(17)。本研究において、K/L grade 4 の個体の IPFP における CGRP 発現量は、K/L grade 2 患者より 2 倍高かった。IPFP における CGRP は、OA 発症に寄与する可能性がある。しかし、

我々の研究では、統計分析および健常対照群のために十分な数の K/L grade 2 患者が欠如していた。OA の病態への CGRP の寄与を明らかにするためには、さらなる調査が必要である。

本研究にはいくつかの Limitation が存在する。第 1 に、非 OA 患者集団がこの研究に含まれなかったため、非 OA 患者と比較して OA 患者の IPFP において CGRP 発現量が上昇するかどうかを確認するためのさらなる検討が必要である。第 2 に、CGRP 発現レベルは SYN よりも IPFP において高かったが、CGRP と疼痛との間の直接的な因果関係の存在については、CGRP 発現量と疼痛スコア間の関係の評価を必要とする。最後に、IPFP 中の CGRP タンパク質濃度を評価していないことが挙げられる。

5. 総括

膝 OA 患者の IPFP は比較的高レベルの CGRP を産生し、COX-2/PGE2 経路によって調節され得る。

6. 今後の課題

IPFP における OA の病態への CGRP の寄与を明らかにするために今後さらなる研究が必要である。

7. 謝辞

本研究を終えるにあたり、北里大学医学部整形外科学 高相晶士教授、井上玄准教授、内田健太郎講師には、ご指導を賜り、深謝申し上げます。また、北里大学大学院整形外科学研究室博士課程在籍の先生方、技術員の大貫裕子さん、北里大学医学部整形外科学医局員の先生方には日頃よりご支援いただきまし

たことを深く感謝申し上げます。

8. 引用文献

1. Baker K, Grainger A, Niu J, Clancy M, Guermazi A, Crema M, et al. Relation of synovitis to knee pain using contrast-enhanced MRIs. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(10):1779–83.
2. de Lange-Brokaar BJ, Ioan-Facsinay A, Yusuf E, Visser AW, Kroon HM, van Osch GJ, et al. Association of pain in knee osteoarthritis with distinct patterns of synovitis. *Arthritis Rheumatol*. 2015;67(3):733–40.
3. Yusuf E, Kortekaas MC, Watt I, Huizinga TW, Kloppenburg M. Do knee abnormalities visualised on MRI explain knee pain in knee osteoarthritis? A systematic review. *Ann Rheum Dis*. 2011;70(1):60–7.
4. Saxler G, Loer F, Skumavc M, Pfortner J, Hanesch U. Localization of SP- and CGRP-immunopositive nerve fibers in the hip joint of patients with painful osteoarthritis and of patients with painless failed total hip arthroplasties. *Eur J Pain*. 2007;11(1):67–74.
5. Ashraf S, Wibberley H, Mapp PI, Hill R, Wilson D, Walsh DA. Increased vascular penetration and nerve growth in the meniscus: a potential source of pain in osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2011;70(3):523–9.
6. Bin SI, Lee SH, Kim CW, Kim TH, Lee DH. Results of arthroscopic medial meniscectomy in patients with grade IV osteoarthritis of the medial compartment. *Arthroscopy*. 2008;24(3):264–8.
7. Jackson RW, Rouse DW. The results of partial arthroscopic meniscectomy in patients over 40 years of age. *J Bone Joint Surg Br*. 1982;64(4):481–5.

8. Jacobson JA, Lenchik L, Ruhoy MK, Schweitzer ME, Resnick D. MR imaging of the infrapatellar fat pad of Hoffa. *Radiographics*. 1997;17(3):675–91.
9. Vahlensieck M, Linneborn G, Schild H, Schmidt HM. Hoffa's recess: incidence, morphology and differential diagnosis of the globular-shaped cleft in the infrapatellar fat pad of the knee on MRI and cadaver dissections. *Eur Radiol*. 2002;12(1):90–3.
10. Clockaerts S, Bastiaansen-Jenniskens YM, Runhaar J, Van Osch GJ, Van Offel JF, Verhaar JA, et al. The infrapatellar fat pad should be considered as an active osteoarthritic joint tissue: a narrative review. *Osteoarthritis Cartilage*. 2010;18(7):876–82.
11. Eymard F, Pigenet A, Citadelle D, Flouzat-Lachaniette CH, Poignard A, Benelli C, et al. Induction of an inflammatory and prodegradative phenotype in autologous fibroblast-like synoviocytes by the infrapatellar fat pad from patients with knee osteoarthritis. *Arthritis Rheumatol*. 2014;66(8):2165–74.
12. Ushiyama T, Chano T, Inoue K, Matsusue Y. Cytokine production in the infrapatellar fat pad: another source of cytokines in knee synovial fluids. *Ann Rheum Dis*. 2003;62(2):108–12.
13. Kennedy JC, Alexander IJ, Hayes KC. Nerve supply of the human knee and its functional importance. *AmJ Sports Med*. 1982;10(6):329–35.
14. Bohnsack M, Meier F, Walter GF, Hurschler C, Schmolke S, Wirth CJ, et al. Distribution of substance-P nerves inside the infrapatellar fat pad and the adjacent synovial tissue: a neurohistological approach to anterior knee pain syndrome. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2005;125(9):592–7.

15. Lehner B, Koeck FX, Capellino S, Schubert TE, Hofbauer R, Straub RH. Preponderance of sensory versus sympathetic nerve fibers and increased cellularity in the infrapatellar fat pad in anterior knee pain patients after primary arthroplasty. *J Orthop Res.* 2008;26(3):342–50.
16. Walker CS, Conner AC, Poyner DR, Hay DL. Regulation of signal transduction by calcitonin gene-related peptide receptors. *Trends Pharmacol Sci.* 2010; 31(10):476–83.
17. Dong T, Chang H, Zhang F, Chen W, Zhu Y, Wu T, et al. Calcitonin gene-related peptide can be selected as a predictive biomarker on progression and prognosis of knee osteoarthritis. *Int Orthop.* 2015;39(6): 1237–43.
18. Minatani A, Uchida K, Inoue G, Takano S, Aikawa J, Miyagi M, et al. Activation of calcitonin generelated peptide signaling through the prostaglandin E2-EP1/EP2/EP4 receptor pathway in synovium of knee osteoarthritis patients. *J Orthop Surg Res.* 2016;11(1):117.
19. Saito T, Koshino T. Distribution of neuropeptides in synovium of the knee with osteoarthritis. *Clin Orthop Relat Res.* 2000;376:172–82.
20. Wang H, Zhang X, He JY, Zheng XF, Li D, Li Z, et al. Increasing expression of substance P and calcitonin gene-related peptide in synovial tissue and fluid contribute to the progress of arthritis in developmental dysplasia of the hip. *Arthritis Res Ther.* 2015;17:4.
21. Bracci-Laudiero L, Aloe L, Buanne P, Finn A, Stenfors C, Vigneti E, et al. NGF modulates CGRP synthesis in human Blymphocytes: a possible anti-inflammatory action of NGF? *J Neuroimmunol.* 2002;123(1-2):58–65.

22. Bracci-Laudiero L, Aloe L, Caroleo MC, Buanne P, Costa N, Starace G, et al. Endogenous NGF regulates CGRP expression in human monocytes, and affects HLA-DR and CD86 expression and IL-10 production. *Blood*. 2005;106(10):3507–14.
23. Ma W, Dumont Y, Vercauteren F, Quirion R. Lipopolysaccharide induces calcitonin gene-related peptide in the RAW264.7 macrophage cell line. *Immunology*. 2010;130(3):399–409.
24. Li W, Hou L, Hua Z, Wang X. Interleukin-1beta induces beta-calcitonin generelated peptide secretion in human type II alveolar epithelial cells. *FASEB J*. 2004;18(13):1603–5.
25. Bowen EJ, Schmidt TW, Firm CS, Russo AF, Durham PL. Tumor necrosis factoralpha stimulation of calcitonin gene-related peptide expression and secretion from rat trigeminal ganglion neurons. *J Neurochem*. 2006;96(1):65–77.
26. Neeb L, Hellen P, Boehnke C, Hoffmann J, Schuh-Hofer S, Dirnagl U, et al. IL-1beta stimulates COX-2 dependent PGE(2) synthesis and CGRP release in rat trigeminal ganglia cells. *PLoSOne*. 2011;6(3):e17360.

9. 業績目録

(I) 原 著

1. Aikawa J, Uchida K, Takano S, Inoue G, Minatani A, Iwase D, Sekiguchi H, Mukai M, Takaso M : Expression of calcitonin gene-related peptide in the infrapatellar fat pad in knee osteoarthritis patients. J Orthop Surg Res, 12 (1) : 65, 2017
2. Takano S, Uchida K, Inoue G, Miyagi M, Aikawa J, Iwase D, Iwabuchi K, Matsumoto T, Satoh M, Mukai M, Minatani A, Takaso M : Nerve growth factor regulation and production by macrophages in osteoarthritic synovium. Clin Exp Immunol. 2017 Nov;190 (2) :235-243
3. 東山礼治, 花田充, 相川淳, 岩瀬大, 南谷淳, 関口裕之, 高野昇太郎, 高相晶士 : 遊離腱を用いた鏡視下 PTFL/ATFL/CFL 再建術 (Scopic PAC) の開発—cadaver での試み—JOSKAS, 42 (3) : 776-80, 2017
4. Uchida K, Takano S, Matsumoto T, Nagura N, Inoue G, Itakura M, Miyagi M, Aikawa J, Iwase D, Minatani A, Fujimaki H, Takaso M : Transforming growth factor activating kinase 1 regulates extracellular matrix degrading enzymes and pain-related molecule expression following tumor necrosis factor- α stimulation of synovial cells: an in vitro study. BMC Musculoskelet Disord, 18 (1) : 283, 2017
5. Takano S, Uchida K, Inoue G, Minatani A, Miyagi M, Aikawa J, Iwase D, Onuma K, Mukai M, Takaso M : Increase and regulation of synovial calcitonin gene-related peptide expression in patients with painful knee osteoarthritis. J Pain Res, 10: 1099-104, 2017
6. Takano S, Uchida K, Miyagi M, Inoue G, Aikawa J, Iwabuchi K, Takaso M : Adrenomedullin regulates IL-1 β gene expression in F4/80+ macrophages during synovial inflammation. J Immunol Res, 9832430, 2017
7. Sekiguchi H, Uchida K, Inoue G, Matsushita O, Saito W, Aikawa J, Tanaka K, Fujimaki H, Miyagi M, Takaso M :Acceleration of bone formation during fracture healing by poly (pro-hyp-gly) 10 and basic fibroblast growth factor containing polycystic kidney disease and collagen-binding domains from Clostridium histolyticum collagenase. J Biomed Mater Res A. 2016 Jun;104 (6) :1372-8. doi: 10.1002/jbm. a. 35670. Epub 2016 Feb 16
8. Takano S, Uchida K, Miyagi M, Inoue G, Fujimaki H, Aikawa J,

- Iwase D, Minatani A, Iwabuchi K, Takaso M: Nerve growth factor by TNF- α and IL-1 β in synovial macrophages and fibroblasts in osteoarthritic mice. J Immunol Res, 5706359, 2016
9. Minatani A, Uchida K, Inoue G, Takano S, Aikawa J, Miyagi M, Fujimaki H Iwase D, Onuma K, Matsumoto T, Takaso M: Activation of calcitonin gene-related peptide signaling through the prostaglandin E2-EP1/EP2/EP4 receptor pathway in synovium of knee osteoarthritis patients. J Orthop Surg Res, 11(1): 117, 2016
10. Takano S, Uchida K, Miyagi M, Inoue G, Aikawa J, Fujimaki H, Minatani A, Sato M, Iwabuchi K, Takaso M: Synovial macrophage-derived IL-1 β regulates the calcitonin receptor in osteoarthritic mice. Clin Exp Immunol, 183(1): 143-9, 2016
11. 東山礼治, 相川淳, 岩瀬大, 南谷淳, 渡邊英一郎, 高相晶士: 自家薄筋腱を用いた鏡視下前距腓靱帯再建術の成績. 日本整形外科スポーツ医学雑誌. 37(2), 137-141, 2017
12. 東山礼治, 渡邊英一郎, 相川淳, 岩瀬大, 南谷淳, 高相晶士: 膝関節鏡視下前外側靱帯再建術の cadaver での試み. 日本整形外科スポーツ医学雑誌. 37(1), 42-45, 2017
13. 東山礼治, 杉原隆之, 木島文博, 相川淳, 岩瀬大, 南谷淳, 善平哲夫, 内田繕博, 高相晶士: 解剖学的鏡視下 ATFL/CFL 再建術における安全な腓骨骨孔作成の工夫. JOSKAS 41 巻 4 号 Page509 (2016. 07)
14. 南谷淳, 相川淳, 東山礼治, 岩瀬大, 高野昇太郎, 占部憲, 高相晶士: 金属アレルギー患者に対する人工膝関節全置換術の検討. 日人工関節会誌, 46, 173-4, 2016
15. 岩瀬大, 松尾隆, 松尾篤, 橋本裕美子, 江端一博, 相川淳, 藤巻寿子, 内田健太郎, 東山礼治, 南谷淳, 高相晶士: 3次元測定を用いた股関節モーションの定量評価への挑戦. 日本脳性麻痺の外科研究会誌 (2188-2258) 26 巻 Page141-144 (2016. 07)
16. 東山礼治, 相川淳, 岩瀬大, 南谷淳, 関口裕之, 占部憲, 高相晶士: 自家ハムストリングス腱を用いた足関節鏡視下前距腓靱帯, 踵腓靱帯再建術の経験. 日本足の外科学会雑誌 36 巻 1 号 Page189-194 (2015. 09)
17. Yamada T, Uchida K, Onuma K, Inoue G, Aikawa J, Takano S, Sekiguchi H, Fujimaki H, Miyagi M, Takaso M: Hyaluronic Acid (800 kDa) Supplementation of University of Wisconsin Solution Improves Viability of Osteochondral Grafts and Reduces Matrix Metalloproteinase Expression during Cold Preservation. Scientific

- World Journal, 631369, 2015
- 1 8. Saito W, Uchida K, Matsushita O, Inoue G, Sekiguchi H, Aikawa J, Fujimaki H, Takaso M :Acceleration of callus formation during fracture healing using basic fibroblast growth factor-kidney disease domain-collagen-binding domain fusion protein combined with allogenic demineralized bone powder. J Orthop Surg Res. 2015 May 9;10:59.
- 1 9. 岩瀬大, 相川淳, 東山礼治, 南谷淳, 高野昇太郎, 迎学, 成瀬康治, 占部憲, 高相晶士:同種骨移植術を併用した人工膝関節再置換術の治療成績. 日本人工関節会誌, 45: 687-8, 2015
- 2 0. 相川淳, 岩瀬大, 東山礼治, 南谷淳, 峯岸洋次郎, 高野昇太郎, 成瀬康治, 峰原宏昌, 高相晶士, 占部憲:人工膝関節置換術患者における膝蓋腱再建術後の感染に対する Salvage 手術. 日本関節病学会 33:189-194, 2014.
- 2 1. 岩瀬大, 相川淳, 東山礼治, 南谷淳, 高相晶士, 占部憲, 藤田護:関節リウマチに伴う前足部変形に対する外科的治療成績. 日本関節病学会誌 (1883-2873) 32 (1) :33-37 (2013. 03)
- 2 2. 平川紀子, 成瀬康治, 占部憲, 辺土名隆, 相川淳, 岩瀬大, 東山礼治, 高相晶士:65 歳以上のアキレス腱断裂に対する強固な縫合術 (6-strand modified Kessler 法+ Hemi-circumferential cross stitch 法) による治療成績. JOSKAS (1884-8842) 38 (3) :757-761 (2013. 06)
- 2 3. 岩瀬大, 相川淳, 東山礼治, 南谷淳, 占部憲, 松尾隆, 菅野徹夫, 松尾篤, 高相晶士:脳性麻痺に伴う股関節脱臼・亜脱臼に対する大腿骨減捻内反骨切り術の治療成績と家族の満足度. 日本小児整形外科学会雑誌 (0917-6950) 22 (1) :150-155 (2013. 06)
- 2 4. 松尾篤, 北野牧子, 松尾隆, 相川淳, 岩瀬大:脳性麻痺における各種体幹緊張, 変形に対する体幹筋解離術の実際. 日本脳性麻痺の外科研究会誌 23:33-38 (2013. 07)
- 2 5. 岩瀬大, 相川淳, 東山礼治, 松尾篤, 北野牧子, 橋本裕美子, 熨斗繁雄, 楠本泰士, 菅野徹夫, 高相晶士, 松尾隆:3 次元測定を用いた股関節力の測定 定量評価の試み日本脳性麻痺の外科研究会 23:125-130 (2013. 07)
- 2 6. 松尾隆, 松尾篤, 北野牧子, 熨斗繁雄, 高木健志, 相川淳, 岩瀬大, 高相晶士, 菅野徹夫:人の立脚歩行期の関節に働く力のモーメント (トルク) の定量計測 体幹が股関節上で回転する時に働く力のモーメント量の計測について. 日本脳性麻痺の外科研究会誌

- 23:131-140 (2013. 07)
27. 岩瀬大, 相川淳, 成瀬康治, 東山礼治, 南谷淳, 高相晶士, 占部憲:広範囲骨欠損を伴った人工膝関節置換術への同種骨移植術の短期成績 日本人工関節学会誌, 42:363-364 2012
28. Jun Aikawa, Kouji Naruse, Yuko Mikuni-Takagaki, Yusuke Kozai, Isamu Kashima, Masashi Takaso, Moritoshi Itoman, Ken Urabe : Low intensity pulsed ultrasound (LIPUS) promoted osteogenetic effect induced by bone allografts. The Kitasato Medical Journal VOL. 41 (2) 2011
29. Jun Aikawa, Ken Urabe, Mamoru Fujita, Hiroaki Minehara, Kouji Naruse, Dai Iwase, Moritoshi Itoman, Masashi Takaso : Treatment of infected total knee arthroplasty by a local drug-delivery system with retention of the metal components. The Kitasato Medical Journal VOL. 41 (2) 2011
30. 高平尚伸, 内山勝文, 高相昌士, 藤田護, 内野正隆, 岡田貴充, 福島健介, 川村直, 中澤俊之, 井村貴之, 相川淳, 占部憲, 糸満盛憲:静脈血栓塞栓症予防のためのリスクレベルに応じた予防調査票. 臨床整形外科 45:603-607 2010
31. Masaki Ueno, Ken Urabe, Mamoru Fujita, Jun Aikawa, Moritoshi Itoman:Discrepancy between anatomical axis and stem position of various femoral components in Japanese. Journal of Orthopaedic Surgery 18 (1) :11-14 2010
32. Hiroyuki Watanabe, Ken Urabe, Naonobu Takahira, Mamoru Fujita, Shinichi Obara, Takashi Hentona, Jun Aikawa:Quality of life, knee function, and physical activity in Japanese elderly women with early-stage knee osteoarthritis. Journal of Orthopaedic Surgery 18 (1) :31-4 2010
33. 相川淳, 占部憲, 藤田護, 糸満盛憲:感染人工関節に対してコンポーネントの温存を試みた治療. 日本人工関節学会誌 38:342-3 2008
34. 藤田護, 占部憲, 相川淳, 満盛憲:エタネルセプト投与中の関節リウマチ患者にたいする人工膝関節全置換術の検討. 関東整形災害外科学会雑誌 39 (4) :229-30 2008
35. 渡邊裕之, 占部憲, 堀順, 清水麻美子, 藤田護, 相川淳:変形性膝関節症における身体活動量と QOL の関係. 日本臨床スポーツ医学会誌 2007 ; 15 (2) :220-7
36. Park HJ, Ken Urabe, Kouji Naruse, Jun Aikawa, Mamoru Fujita,

Moritoshi Itoman:Arthroscopic evaluation after surgical repair of intercondylar eminence fractures. Archives of orthopaedic and trauma surgery 127 (9) :753-7 2007

- 3 7. 上野正喜, 占部憲, 峰原宏昌, 藤田護, 相川淳, 成瀬康治, 糸満盛憲:人工膝関節置換術における大腿骨軸と大腿骨コンポーネントのステム位置との比較－関節リウマチ患者の X 線側面像における検討－. 日本リウマチ・関節外科学会雑誌 25:139-44 2006
- 3 8. 占部憲, 善平哲夫, 藤田護, 相川淳, 小林明正, 糸満盛憲:人工膝関節全置換術時の膝蓋下脂肪体切除術が膝蓋腱長に与える影響. 東日本整形災害外科学会雑誌 18 (7) :7-10 2006
- 3 9. 藤田護, 占部憲, 相川淳, 糸満盛憲:人工膝関節全置換術における posterior condylar offset と膝屈曲可動域の検討. 日本人工関節学会誌 35 : 73-74, 2005
- 4 0. Tomoyuki Mukaida, Ken Urabe, Kouji Naruse, Jun Aikawa, Motoyuki Katano, Suong-Hyu Hyon, Moritoshi Itoman:Influence of three-dimensional culture in a type II collagen sponge on primary cultured and dedifferentiated chondrocyte. J Orthopaedic Science 10:521-8 2005
- 4 1. 高平尚伸, 西村明人, 成瀬康治, 相川淳, 向井田智之, 内山勝文, 糸満盛憲:ヒアルロン酸は, 兎培養軟骨細胞における IL-1 α 存在下での細胞外基質変化および一酸化窒素産生を変化させた. 骨・関節・靱帯, 16(5):523-528 2003
- 4 2. 伊賀敏郎, 祖父江牟婁人, 森田佳明, 鈴木義隆, 相川淳:大腿骨頸部及び転子部骨折の予後－生命予後と歩行能力の予後 Hip Joint;27:124-6 2001

(II) 著 書

1. 運動器外傷治療学 下肢の外傷 525-562 糸満盛憲他

(III) 総説・講座

1. 占部憲, 成瀬康治, 相川淳, 藤田護, 内田健太郎, 糸満盛憲:リン酸カルシウム骨セメントを用いた抗菌薬 drug delivery system とコンポーネントを温存した人工膝関節全置換術後感染の治療. 整形・災害外科 53 : 603-610, 2010

(IV) 症例・臨床治験・その他

1. 東山礼治, 相川淳, 岩瀬大, 南谷淳, 関口裕之, 田澤諒, 高相晶士: 同種アキレス腱を用いた解剖学的鏡視下 ATFL・CFL 再建術を施行したバレエダンサーの 1 例. 日本足の外科学会雑誌. 37 (1), 279-283, 2016
2. 東山礼治, 相川淳, 岩瀬大, 南谷淳, 関口裕之, 高野昇太郎, 高相晶士: 腓骨筋腱脱臼に対し後足部内視鏡下 Peroneal Groove Deepening を施行した 1 例. 日本足の外科学会雑誌. 37 (1), 276-278, 2016
3. 小山智久, 岩瀬大, 東山礼二, 南谷淳, 相川淳, 高野昇太郎, 村田幸佑, 田澤諒, 高相晶士: 大腿骨外側後顆に発症した広範囲離断性骨軟骨炎壊死期と考えられた一例. 関東整形災害外科学会雑誌 47 巻臨増号外 Page112 (2016. 03)
4. 白澤 栄樹, 南谷淳, 高野昇太郎, 岩瀬大, 相川淳, 高相晶士, 占部憲: 新鮮膝蓋骨脱臼骨折に対して内側膝蓋大腿靱帯修復術および骨軟骨接合術を施行した 1 例. 神奈川医学会雑誌 43 巻 1 号 Page141-142 (2016. 01)
5. 迎学, 東山礼治, 相川淳, 岩瀬大, 南谷淳, 高野昇太郎, 高相晶士: 陳旧性リスフラン関節損傷に Mini Tightrope を使用後ボタンが骨に埋没した 1 例. 神奈川整形災害外科研究会雑誌 29 巻 1 号 Page9 (2016. 05)
6. 迎学, 岩瀬大, 相川淳, 東山礼治, 南谷淳, 高野昇太郎, 成瀬康治, 占部憲, 高相晶士: 治療に難渋した人工膝関節置換術後顆上骨折の 1 例 同種骨移植を用いての対処, 日本人工関節会誌, 45: 585-6, 2015
7. 庄司真太郎, 東山礼治, 相川淳, 岩瀬大, 南谷淳, 関口裕之, 成瀬康治, 占部憲, 高相晶士: 両側に発生した腓骨筋癒性扁平足に対し Accessory Anterolateral Talar Facet の鏡視下切除術が著効した 1 例. 日本足の外科学会雑誌. 36, 329-333, 2015
8. 貞升彩, 東山礼治, 相川淳, 岩瀬大, 南谷淳, 関口裕之, 高相晶士: 両側足関節外側不安定症に対し両側同時に自家薄筋腱による関節鏡下 ATFL 再建術を施行した 1 例. 日本足の外科学会雑誌. 36, 345-348, 2015
9. 高野昇太郎, 相川淳, 占部憲, 岩瀬大, 南谷淳, 東山礼治, 峰原宏昌, 成瀬康治, 糸満盛憲, 高相晶士. 脛骨近位端巨細胞腫切除後の骨軟骨欠損に対して凍結保存同種骨軟骨移植を行った 1 例 JOSKAS, 37 巻, 3 号, 568-573
10. 東山礼治, 相川淳, 岩瀬大, 高相晶士: 中年男性に発症した Freiberg 病に対し自家骨軟骨柱移植術を施行した 1 例. 日本足の外科学会誌, 33 巻, 1 号, 212-216
11. 東山礼治, 相川淳, 岩瀬大, 南谷淳, 関口裕之, 高野昇太郎, 成

- 瀬康治, 占部憲, 高相晶士:薄筋腱を用いて関節鏡視下 ATFL 再建術を施行した 1 例. 日本足の外科学会雑誌. 35, 313-316, 2014
- 1 2. 関口裕之, 東山礼治, 相川淳, 岩瀬大, 南谷淳, 高野昇太郎, 渡邊裕之, 成瀬康治, 占部憲, 高相晶士:足関節外側靱帯損傷に対し同種骨付き膝蓋腱を用いて再建術を行った 2 例. 35, 308-312, 2014
- 1 3. 名倉直重, 岩瀬大, 相川淳, 東山礼治, 成瀬康治, 南谷淳, 藤巻寿子, 高相晶士:先天性筋緊張性ジストロフィーに伴う内反足に対して Evans 手術を用いた 1 例. 関東整形災害外科学会雑誌. 45, 113-118, 2014
- 1 4. 北野牧子, 寺原幹雄, 松尾篤, 松尾隆, 菅野徹夫, 相川淳, 岩瀬大:脳性麻痺の高度な外反足に対し通常の整形外科的選択的痙性コントロールに短腓骨筋腱延長及び第三腓骨筋腱切離を加えた 2 例. 日本脳性麻痺の外科研究会誌 23:17-21 2013
- 1 5. 東山礼治, 高森尉之, 平山博久, 杉原隆之, 渡辺英一郎, 木島丈博, 宮本周一, 相川淳, 岩瀬大, 南谷淳, 高相晶士:外側動揺を主訴とする陳旧性 ACL 損傷と変形性膝関節症の合併例に対して高位脛骨骨切り術と ACL 再建術を同時に施行した例. JOSKAS (1884-8842) 38 (3) :611-615 2013
- 1 6. 関口裕之, 東山礼治, 相川淳, 岩瀬大, 高相晶士, 鈴木良和, 南谷淳:陳旧性足関節靱帯損傷に対し, 手術施行後 interference screw の脱転を来した 1 例 神奈川整形災害外科研究会雑誌 25 (5) :189-192 2013
- 1 7. 岩瀬大, 相川淳, 成瀬康治, 高崎純孝, 善平哲夫, 上野正喜, 森谷光俊, 糸満盛憲 無汗性外胚葉形成不全症に急性骨髓炎を合併した 1 例. 神奈川整形災害外科研究会雑誌 21 (5) :123-6 2009
- 1 8. 藤田護, 占部憲, 相川淳, 岩瀬大, 糸満盛憲:混合性結合組織病に合併した月状骨壊死の 1 例. 関東整形災害外科学会雑誌 40 (1) :71-2 2009
- 1 9. 助川浩士, 占部憲, 相川淳, 藤田護, 岩瀬大, 江村星, 糸満盛憲:円板状半月に伴った広範囲な大腿骨外側離断性骨軟骨炎の 1 例. 神奈川整形災害外科研究会雑誌 21 (3) :71-5 2009
- 2 0. 相川淳, 北爪伸仁, 宮下謙一, 高木淳, 関忍, 八木英憲, 二見俊郎, 塚本行男:両膝膝蓋大腿関節に発生した離断性骨軟骨炎の 1 例. 関東膝を語る会誌 15 (1) :29-33 1999.
- 2 1. 相川淳, 蛭原有男, 安達公, 山屋智康, 田辺賀則, 宮下謙一, 関忍, 二見俊郎, 塚本行男, 久保寺大也:歩行困難を呈した硬膜内脱出腰椎椎間板ヘルニアの 1 例. 神奈川整形災害外科医会雑誌. 11 (5) :231-234 1998.

2 2. 相川淳， 北爪伸仁， 宮下謙一， 八木英憲， 池田貴英， 二見俊郎，
塚本行男:再発を繰り返した膝色素性絨毛結節性滑膜炎の 1 例. 関東膝を
語る会会誌， 14 (1) : 27-32， 1998.

10. 図表

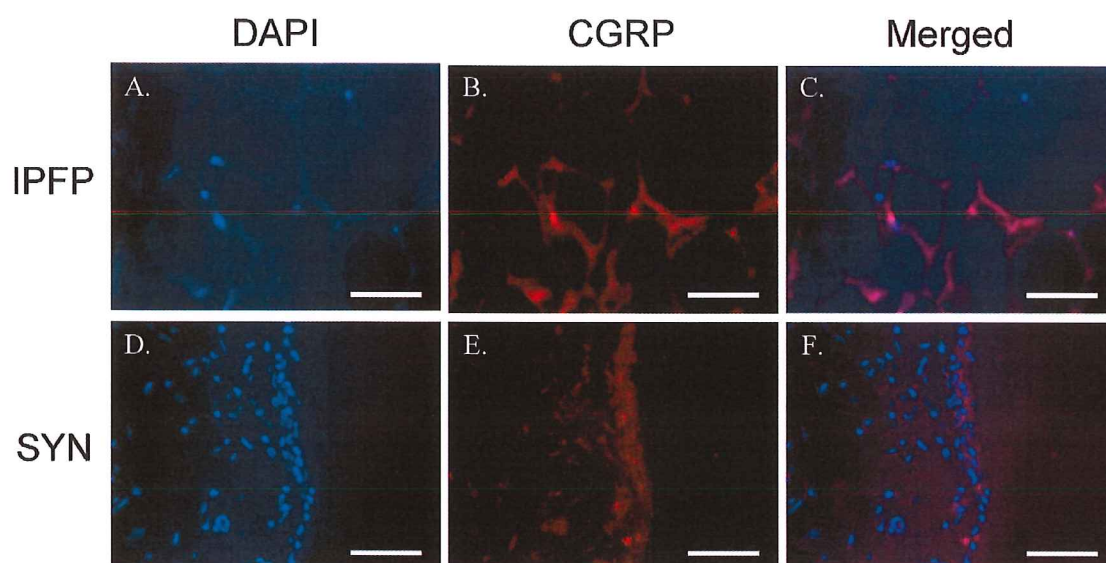


図 1. IPFP, SYN における CGRP の局在

A-C) IPFP, D-F) SYN

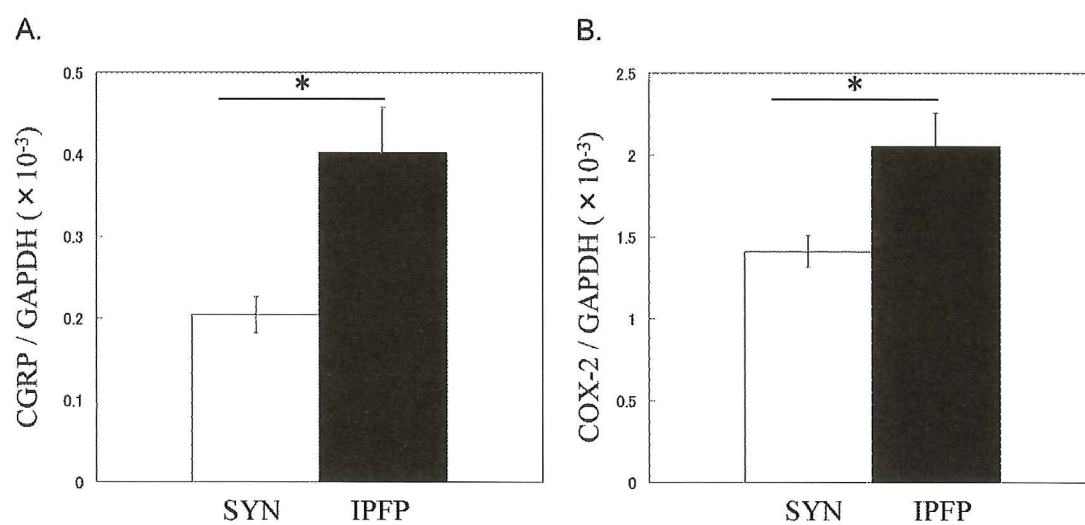


図 2 IPFP, SYN における CGRP、COX-2 の発現

A. CGRP, B. COX-2

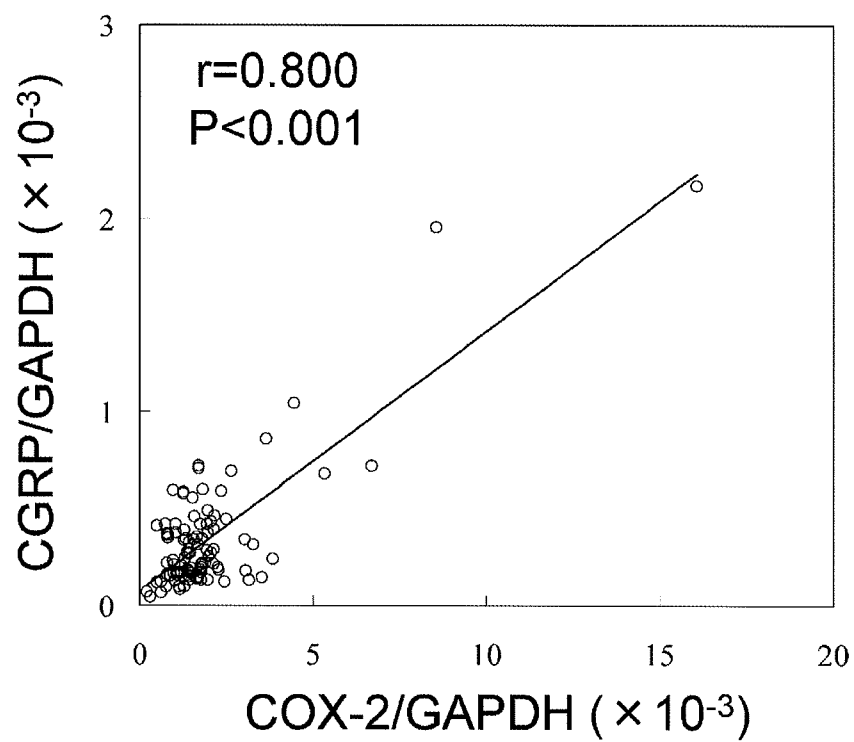


図 3. IPFP における CGRP 発現と COX-2 発現の相関

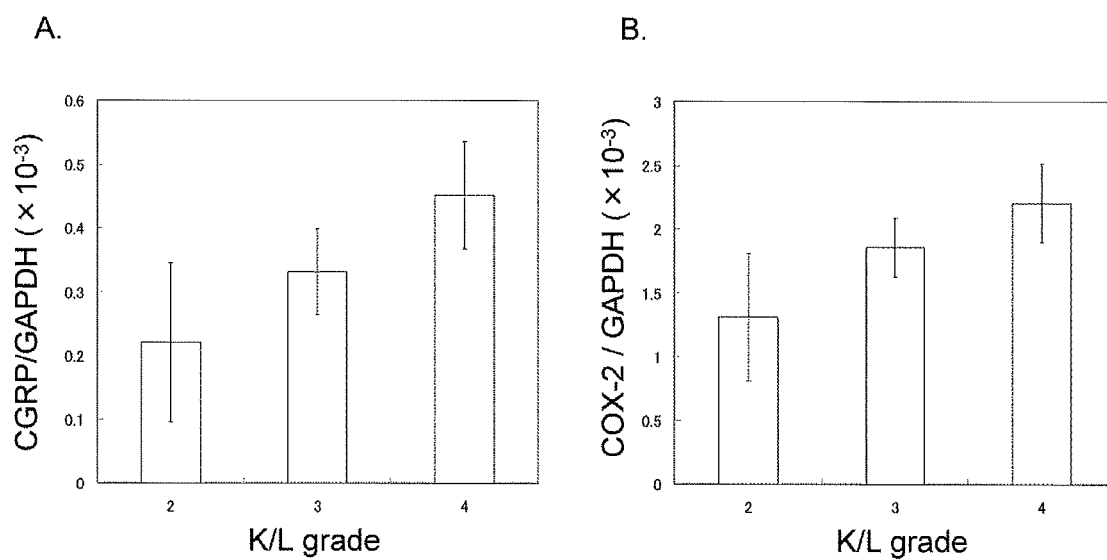


図.4 K/L grade と CGRP, COX-2 発現との関連性

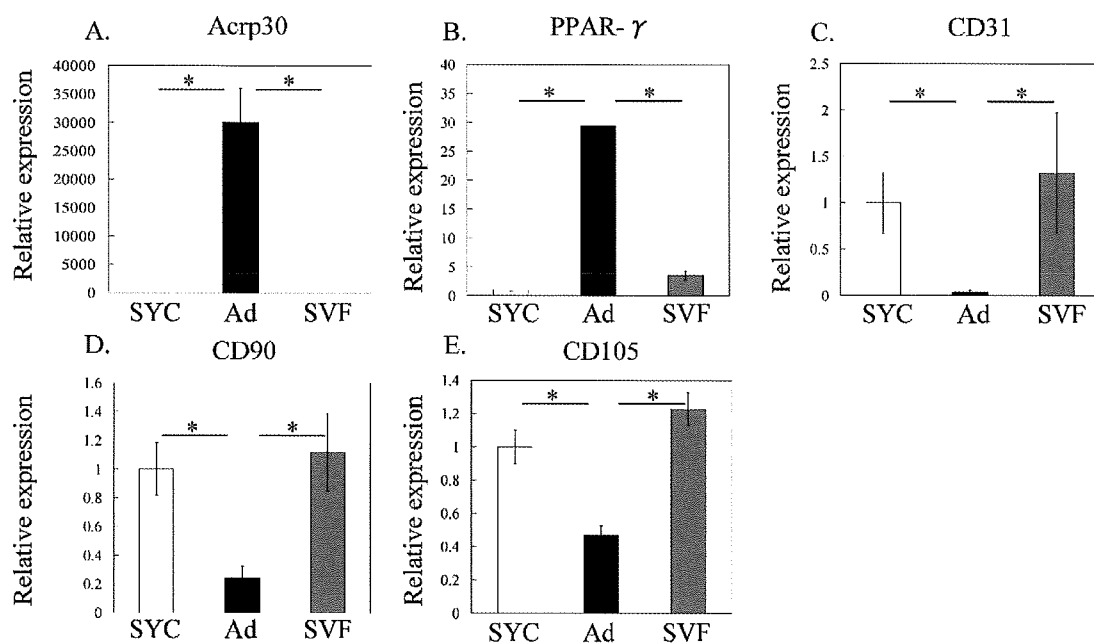


図5 脂肪細胞(Ad), 血管間質細胞群 (SVF) における脂肪細胞マーカー、血管内皮細胞マーカー、間質細胞マーカーの発現

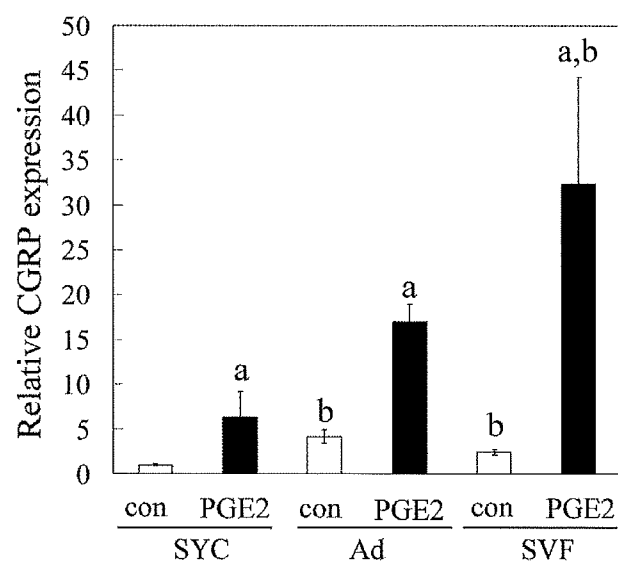


図6 PGE2 が脂肪細胞(Ad), 血管間質細胞群 (SVF) における CGRP が及ぼす影響

a は各細胞における con と PGE2 との有意差、b は同一条件での SYC との有意差 ($P < 0.05$) を表している。