Review Article

Bone pain in knee osteoarthritis

Koji Aso, Masashi Izumi, Yusuke Okanou, and Masahiko Ikeuchi

Department of Orthopedic Surgery, Kochi Medical School, Kochi University

Abstract

Knee pain is a major source of disability in patients with knee osteoarthritis (OA). Although the mechanism of OA progression has been well documented, pain pathophysiology is largely unknown. Recent accumulating clinical evidence indicates that subchondral bone marrow lesions (BMLs) detected on MRI in knee OA are strongly associated with intense pain. In this review we describes bone pain in knee osteoarthritis clarified by our basic and clinical studies.

In basic studies, we clarified nociceptive phenotype alterations of subchondral bone afferents of the distal femur in mono-iodoacetate (MIA)-induced OA rats. Two different retrograde tracers were separately injected into the knee joint cavity and the subchondral bone to identify synovium and subchondral bone afferents. OA caused an up-regulation of calcitonin gene-related peptide (CGRP) and tyrosine receptor kinase A (TrkA) in both synovium and subchondral bone afferents. CGRP and TrkA expression in subchondral bone afferents gradually increased over 6 weeks. Furthermore, up-regulation of CGRP and TrkA in subchondral bone afferents displayed a strong correlation with the subchondral bone damage score. Up-regulation of CGRP and TrkA in subchondral bone afferents correlated with subchondral bone damage, suggesting that subchondral bone is a therapeutic target, especially in the case of advanced stage knee OA.

In clinical studies, we clarified the association of subchondral BMLs with pain in medial compartment knee osteoarthritis. Total BMLs size were significantly correlated with walking pain (Spearman's $r=0.59$, $p<0.01$). As a result of the multi regression analysis, subchondral BMLs became a factor of walking knee pain in the case of advanced stage knee OA (Regression coefficient = 0.75, $p<0.01$). Subchondral BMLs are potentially therapeutic targets to treat pain associated with subchondral bone in knee osteoarthritis.

In conclusion, subchondral bone, in itself, is a therapeutic target, especially in the case of advanced stage knee OA. In particular, BMLs are potentially therapeutic targets to treat joint pain associated with the subchondral bone in OA.

Keywords

Subchondral bone; Bone marrow lesions; Knee osteoarthritis; Pain

Received: 27 October 2016

変形性膝関節症における骨由来の痛み

阿漕 孝治／泉 仁／岡上 裕介／池内 昌彦

高知大学医学部 整形外科

はじめに

変形性膝関節症（膝OA）は、関節軟骨の変性摩耗を特徴とし、滑膜や半月板、軟骨下骨、靱帯などの関節構成体に一連の二次性変化を生じる疾患であるが、痛みは膝OA患者が医療機関を初めて受診する最も多い主訴である。本邦で行われた大規模住民コホートROAD（Research on Osteoarthritis/osteoporosis Against Disability）スタディによるとX線上の膝OAの有病患者数は2530万人であるのに対し、痛みを有する患者数は780万人と報告されている¹¹⁾。つまり、X線上の膝OAがあっても痛みを有しない人の方が多く、X線写真では、膝の変形の程度は判別できても実際に患者の主訴である痛みは分からない。しかし近年、MRIで指摘できる膝軟骨下骨のBone marrow lesions (BMLs) が膝OAの痛みの重症化と関係する報告されており^{6,8)} (Fig.1), 我々は、膝OAにおける骨由来の痛みに注目してきた。本稿では、我々が取り組んできた基礎および臨床研究を紹介しながら膝OAにおける骨由来の痛みについて概説する。

ラット膝OAモデルにおける軟骨下骨支配神経の変化

近年、膝OAの痛みと関連の深い変化の一つとしてMRIで指摘できる膝軟骨下骨のBMLsが報告されている^{6,8)} (Fig.1)。これは軟骨下骨が侵害刺激に対して高い感受性があることを示唆しているが、膝軟骨下骨を支配する求心性神経の化学的特性は明らかとなっていなかった。そこで我々は、正常膝の軟骨下骨を支配する神経の化学的特性を明らかにすることから開始した。膝軟骨下骨を支配する求心性神経の細胞体は後根神経節 (DRG) に存在する。DRG神経細胞の中で無髄線維で小型細胞の多くが侵害受容器としての役割を有する。その小型細胞は炎症性疼痛に関与するnerve growth factor (NGF) 依存性のCGRP陽性細胞および神経因性疼痛と関係するisolectin B4 (IB4) 陽性細胞の2群に分類できる¹⁾。また、有髄線維の細胞は中型から大型の細胞が多くNF200 (neurofilament 200) にて標識できる (Fig.2)。正常ラット膝を用いて、膝軟骨下骨を支配する神経を標識するために大腿骨遠位骨端に逆行性神経トレーサーFast Blueを、膝関節滑膜を支配する神経を標識するために膝関節腔に別の神経トレーサーであるDiIを注入した。神経トレーサー注入後、14日目に

Fig.1 Subchondral bone marrow lesions (BMLs) detected on MRI in knee OA.

Fig.2 Representative photomicrographs of CGRP-IR, TrkA-IR, NF200-IR or IB4-binding DRG neurons.

CGRP; calcitonin gene-related peptide, IB4; isolectin B4, NF200; neurofilament, TrkA; tyrosine receptor kinase A.

Table 1 The percentage of CGRP-IR, TrkA-IR, NF200-IR and IB4 binding neurons innervating the subchondral bone of the distal femur and the knee joint

	neurons innervating the subchondral bone	neurons innervating the synovium
CGRP-immunoreactive (IR) (%) (<i>n</i> =6 knee)	49.8 [44.5, 54.3] *	39.9 [38.2, 45.1]
TrkA-IR (%) (<i>n</i> =6 knee)	65.5 [62.0, 67.8] *	45.4 [43.9, 53.3]
NF200-IR (%) (<i>n</i> =6 knee)	34.9 [32.0, 51.0]	52.1 [44.8, 55.8] **
IB4-IR (%) (<i>n</i> =3 knee)	0.0 [0.0, 0.0]	1.2 [0.6, 1.2]

Median values [interquartile range] are given.

p*<0.05; versus DiI-labelled neurons, *p*<0.05; versus FB-labelled neurons

L1~L6のDRGを摘出し、凍結切片を作製した。さらに免疫組織化学染色を行い、FBおよびDiIで標識されるDRG細胞の内、疼痛関連ペプチドCGRP、NGF受容体TrkA、NF200、IB4の発現の割合を計測した。その結果、軟骨下骨を支配する神経のCGRPおよびTrkAの割合は、滑膜などの関節内組織を支配する神経より有意に多いことが明らかとなった (Table 1)。つま

り、膝軟骨下骨は炎症性疼痛に鋭敏な組織であると考えられた²⁾。

次に、逆行性神経トレーサーを用いた同様の手法で膝OA進行過程における軟骨下骨支配神経の化学的特性 (CGRP, TrkAの発現) の変化を検討した。ラット膝関節内にMono-Iodoacetate (MIA) 3 mgを注入し、膝OAモデルを作成した。MIA注入2週後の膝OA早期群と6週後の膝OA

Fig.3 Alterations of CGRP and TrkA expression in DRG neurons innervating the subchondral bone (A) and the synovium (B).

Six knees of 6 rats were evaluated. Values are median [interquartile range].

進行期群, 生理食塩水を注入したコントロールで大腿骨側の軟骨下骨支配神経と膝関節滑膜支配神経の変化を検討した。その結果, 軟骨下骨支配神経のCGRPおよびTrkAは, コントロール, 早期, 進行期と徐々に有意な増加を認めた一方, 膝関節滑膜支配神経のCGRPおよびTrkA陽性率は, 早期には最大に達し, 進行期と早期では有意差は認めなかった (Fig.3)。また, 軟骨下骨の組織変化をSubchondral bone damage scoresを用いて評価したところ, Subchondral bone damage scoresと軟骨下骨支配神経のCGRP, TrkA発現は, いずれも高い相関関係を認めた (CGRP; Spearman's $r=0.85$, $p<0.01$. TrkA; Spearman's $r=0.80$, $p<0.01$)⁴⁾。この結果からOA変化が進行するにつれて, 軟骨下骨露出や圧潰によって軟骨下骨を支配する神経終末が物理的に損傷され, CGRPやTrkAなどの疼痛関連分子の発現が増加すると考えられた。つまり, OAが進行するほど骨自体の痛みが大きくなり, OA進行期ほど骨をターゲットとした治療が重要になってくる。一方で滑膜支配神経のCGRPおよびTrkAは早期には最大に達するこ

とから, 滑膜に起因した痛みはOA初期から重要になってくると考えられた。臨床においても, 滑膜炎を反映する血清インターロイキン6 (IL-6) の値は初期の痛みに関与していると報告されており, 滑膜は初期から疼痛源としての重要な働きをしていることが示唆されている¹⁰⁾。また, OA進行によって軟骨下骨および関節滑膜支配神経共にNGF受容体であるTrkAが増加することが明らかになった。近年の臨床試験において, 抗NGF抗体は劇的に膝OAの痛みを軽減させたと報告されている⁷⁾。我々の研究結果から, 抗NGF抗体は膝OAの軟骨下骨と関節滑膜由来の痛みと共に有効であると考えられた。

膝OA患者における軟骨下骨のBone marrow lesionsと痛みの関係

臨床において, 軟骨下骨の変化としてMRIで捉えられるBMLsは, 膝OAの痛みと関連の深い変化の一つとして報告されている^{6,8)}(Fig.1)。そ

Table 2 Correlation of Total BMLs score with knee pain

	Walking pain	Rest pain	Flexion/extension pain
Total BMLs score	0.59	0.27	0.42

Values are Spearman's r

Fig.4 Correlation of Total BMLs score with walking knee pain.

ここで我々は、膝OAにおけるBMLsと痛みの強度との関係を詳細に検討することにした。膝関節痛を主訴で当科受診し、MRIを撮像し得た立位Femoro-tibial angle 178°以上の内側型膝OA 45膝を対象（男性10膝、女性35膝、平均年齢73±9歳）とした。Kellgren-Lawrence分類ではGradeⅡが3膝、GradeⅢが11膝、GradeⅣが31膝であった。BMLsはWhole-Organ MRI Score (WORMS)⁹⁾を用いて点数化した。WORMSは内側および外側大腿脛骨関節を5部位に、膝蓋大腿関節を4部位に、顆間部を1部位に分け、それぞれの部位ごとのBMLsの大きさを0～3点で点数化し、合計45点で評価する。MRIの撮像法は、WORMS⁹⁾を参考にスピンエコー法の脂肪抑制T2強調矢状断像 (TR 2500 ms / TE 90 ms) とした。痛みの強度は歩行時、安静時、最大屈曲・伸展時の痛みをVisual Analogue Scale (VAS)を用いて評価し、BMLs点数との関係を検討した。その結果、BMLsの合計点数は歩行時痛と

比較的高い正の相関を、屈曲/伸展時痛と弱い正の相関を認めた (Table 2, Fig.4)。本研究の結果、軟骨下骨のBMLsは膝OAの歩行時痛の強度と関係していることが判明した³⁾。

さらに、我々の基礎研究によってOA進行期において軟骨下骨由来の痛みがより重要になってくることが明らかになったため、臨床において軟骨下骨のBMLsが進行期膝OA患者の痛みの要因になるかを検討した。膝関節痛を有する進行期 (Kellgren-Lawrence分類GradeⅢまたはⅣ) の内側型膝OA 40膝 (平均年齢75±8歳、男性12膝、女性28膝) を対象とし、痛み強度に関与するMRI所見を重回帰分析によって検討した。膝OAのMRI所見はWORMS⁹⁾を用いて、BMLs、関節軟骨形態、骨棘、半月板形態、滑膜炎/関節水腫、軟骨下嚢胞、軟骨下骨摩耗、靱帯形態をそれぞれ点数化した。従属変数を歩行時、安静時の痛みの強度 (Pain VAS (mm)) とし、各MRI所見を独立変数として重回帰分析を用いて解析した。その結果、歩行時痛と有意な関連因子としてBMLsのみが選択された (標準回帰係数 = 0.75, $p < 0.01$)。安静時痛と有意な関連因子として選択されたMRI所見は認めなかった。痛み強度に影響を及ぼす因子を検討した過去の報告では、OA初期では滑膜炎を反映する血清IL-6が、進行期では下肢アライメントが選択されたとされている¹⁰⁾。進行期では、下肢アライメント悪化、軟骨欠損、半月板脱臼に伴って、軟骨下骨への荷重負荷の増大が起こり、軟骨下骨にmicro damageが積み重なることでBMLs増大が起こり、その結果、歩行時痛が増

悪すると考えられる。本研究の結果から、軟骨下骨のBMLsは進行期膝OAの歩行時痛の悪化に関与しており、BMLs自体が膝OAにおける痛みの治療のターゲットになると考えられた⁵⁾。今後、BMLsを治療ターゲットにした膝OAの治療戦略を考えていく必要がある。

ま と め

我々は、軟骨下骨が膝OAの重要な疼痛源となることを基礎および臨床研究によって明らかにしてきた。特に、進行期膝OAにおいては骨由来の痛みが重要となり、MRIで軟骨下骨の変化として確認できるBMLsが歩行時痛悪化の要因となる。そのため、軟骨下骨のBMLs自体が膝OAにおける痛みの治療のターゲットになると考えられる。

文 献

- 1) Alvarez, F.J., Morris, H.R., Priestley, J.V., Subpopulations of smaller diameter trigeminal primary afferent neurons defined by expression of calcitonin gene-related peptide and the cell surface oligosaccharide recognized by monoclonal antibody la4. *J. Neurocytol.*, 20: 716–731, 1991.
- 2) Aso, K., Ikeuchi, M., Izumi, M., Sugimura, N., Kato, T., Ushida, T., Tani, T., Nociceptive phenotype of dorsal root ganglia neurons innervating the subchondral bone in rat knee joints, *Eur. J. Pain*, 18: 174–181, 2014.
- 3) 阿漕孝治, 泉仁, 杉村夏樹, 池内昌彦, 内側型変形性膝関節症における bone marrow lesions と痛みの関係, *Journal of Musculoskeletal Pain Research*, 7: 201–205, 2015.
- 4) Aso, K., Izumi, M., Sugimura, N., Okanoue, Y., Ushida, T., Ikeuchi, M., Nociceptive phenotype alterations of dorsal root ganglia neurons innervating the subchondral bone in osteoarthritic rat knee joints, *Osteoarthritis Cartilage*, 24: 1596–1603, 2016.
- 5) 阿漕孝治, 泉仁, 岡上裕介, 池内昌彦, 末期変形性膝関節症の痛みに関するMRI所見の検討, *日本整形外科学会雑誌*, 90: S796, 2016.
- 6) Felson, D.T., Niu, J., Guermazi, A., Roemer, F., Aliabadi, P., Clancy, M., Torner, J., Lewis, C.E., Nevitt, M.C., Correlation of the development of knee pain with enlarging bone marrow lesions on magnetic resonance imaging, *Arthritis Rheum.*, 56: 2986–2992, 2007.
- 7) Lane, N.E., Schnitzer, T.J., Birbara, C.A., Mokhtarani, M., Shelton, D.L., Smith, M.D., Brown, M.T., Tanezumab for the treatment of pain from osteoarthritis of the knee, *N. Engl. J. Med.*, 363: 1521–1531, 2010.
- 8) Lo, G.H., McAlindon, T.E., Niu, J., Zhang, Y., Beals, C., Dabrowski, C., Le Graverand, M.P., Hunter, D.J., OAI Investigators Group. Bone marrow lesions and joint effusion are strongly and independently associated with weight-bearing pain in knee osteoarthritis: Data from the osteoarthritis initiative, *Osteoarthritis Cartilage*, 17: 1562–1569, 2009.
- 9) Peterfy, C.G., Guermazi, A., Zaim, S., Tirman, P.F., Miaux, Y., White, D., Kothari, M., Lu, Y., Fye, K., Zhao, S., Genant, H.K., Whole-organ magnetic resonance imaging score (worms) of the knee in osteoarthritis, *Osteoarthritis Cartilage*, 12: 177–190, 2004.
- 10) Shimura, Y., Kurosawa, H., Sugawara, Y., Tsuchiya, M., Sawa, M., Kaneko, H., Futami, I., Liu, L., Sadatsuki, R., Hada, S., Iwase, Y., Kaneko, K., Ishijima, M., The factors associated with pain severity in patients with knee osteoarthritis vary according to the radiographic disease severity: A cross-sectional study, *Osteoarthritis Cartilage*, 21: 1179–1184, 2013.
- 11) Yoshimura, N., Muraki, S., Oka, H., Mabuchi, A., En-Yo, Y., Yoshida, M., Saika, A., Yoshida, H., Suzuki, T., Yamamoto, S., Ishibashi, H., Kawaguchi, H., Nakamura, K., Akune, T., Prevalence of knee osteoarthritis, lumbar spondylosis, and osteoporosis in Japanese men and women: The research on osteoarthritis / osteoporosis against disability study, *J. Bone Miner. Metab.*, 27: 620–628, 2009.

Address for correspondence: Koji Aso
Department of Orthopedic Surgery,
Kochi Medical School, Kochi University
185-1 Oko-cho Kohasu, Nankoku 783-8505, Japan

本稿は第38回日本疼痛学会(2016年6月;札幌)『シンポジウム1:骨の痛み』の講演内容をまとめたものである。