

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2022

課題番号：18K16642

研究課題名(和文) 抗神経成長因子抗体と関節注射併用による変形性膝関節症に対する新たな疼痛治療の開発

研究課題名(英文) Development of combination therapy of tanezumab and intra-articular injection in an osteoarthritic rat model

研究代表者

岩崎 浩司 (Iwasaki, Koji)

北海道大学・医学研究院・特任助教

研究者番号：40771895

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：抗神経成長因子(Nerve growth factor, NGF)抗体を変形性膝関節症(OA)の関節注射治療薬として用いた場合の有効性と安全性を、モノヨード酢酸による薬剤誘発性膝関節症モデルラットを用いて評価した。抗NGF抗体は1, 10, 100 µgを週1回4週連続で投与を行った。両脚の荷重分布からは100 µg群のみ除痛効果を認めたと、Von-ray testの結果からは抗体濃度によらずAllodyniaは認められなかった。6週後の組織学的評価では抗NGF抗体の濃度によるOAの進行は認めなかった。抗NGF抗体の関節内投与は、除痛効果が得られ、かつ膝OAの増悪を惹起しないことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

変形性膝関節症(OA)は高齢者に多く発症し、その治療は高齢化が進む日本の医療において重要である。膝OAに対する保存治療には、NSAIDs、麻薬などが用いられているが、その効果の程度、副作用から除痛効果が強く安全性の高い薬剤が期待されている。抗NGF抗体の全身投与治療は、優れた除痛効果をもたらすが、膝OAの増悪を引き起こすことが報告されている。本研究の結果、膝OAラットにおいて抗NGF抗体の関節注射治療は、全身投与と比べ少量の抗NGF抗体で除痛効果が得られ、膝OA増悪を惹起しないことが明らかになり、有効な膝OA治療方法としての可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Knee osteoarthritis (OA) was induced in an 8-week-old male SpragueÓ Dawley (SD) rat joint by monoiodoacetate (MIA) injection for 2 weeks, and the effect of weekly injections of low-dose (1, 10, and 100 µg) NGF antibody or saline (control) was evaluated. Behavioral tests were performed, and at the end of week 6, all rats were sacrificed and their knee joints were collected for macroscopic and histological evaluations. Results showed that 100 µg NGF antibody injection relieved pain in OA rats, as evidenced from improved weight-bearing performance but not allodynia. In contrast, no significant differences were observed in macroscopic and histological scores between rats from different groups, demonstrating that intra-articular treatment does not worsen OA progression. These results suggest that local administration yielded a low effective NGF antibody dose that may serve as an alternative approach to systemic injection for the treatment of patients with OA.

Keywords:

研究分野：変形性膝関節症

キーワード：神経成長因子 変形性膝関節症 保存治療

1. 研究開始当初の背景

運動器の障害は高齢者の生活の質（QOL）を著しく損なうため、高齢者の運動器疾患の予防・治療は、超高齢化社会を迎えようとするわが国にとって、高齢者の QOL の維持、健康寿命の延伸、生産人口の確保、医療費増大の抑制といった点で非常に重要である。

変形性膝関節症（OA）の有病者数は 780 万人と推定されており（ROAD study, Yoshimura et al. J Bone Miner Metab. 2009）、有病率は年齢とともに増加するとされ、膝 OA の治療は高齢化社会において非常に重要である。膝 OA の治療の大部分は保存治療であり、特に鎮痛薬による疼痛コントロールが重きを占めている。本邦では鎮痛薬として NSIADs が一般的であるが、近年強力な鎮痛効果を持つオピオイドも用いられている。しかしオピオイドは依存症という副作用があり、米国で社会問題となっており、本邦で一般的に用いることは難しく、オピオイドに代わる新規の鎮痛薬が求められている。

神経成長因子（Nerve Growth Factor, NGF）は疼痛に関わる分子であり、抗 NGF 抗体は強い鎮痛効果が明らかになっている。しかし、抗 NGF 抗体の全身投与により、鎮痛効果は得られるが、末期 OA 症例では膝 OA の進行が報告されている[1]。鎮痛剤の全身投与と比較し、関節内投与は一般的に同じ除痛効果を得るための投与量は少なく済み、血中への移行も少ないことから有害事象は小さくなる可能性がある。そこで抗 NGF 抗体を関節内投与すること及び関節保護役との併用により、優れた鎮痛効果を維持したまま、膝 OA 進行という有害事象の発生が抑えられるのではないかと考えられた。

2. 研究の目的

本研究の目的は NGF に対するヒト化モノクローナル抗体 Tanezumab の関節内投与により除痛効果と膝 OA 進行の発症の有無を解明することである。また、膝 OA が進行する場合に、膝関節軟骨保護作用のあるヒアルロン酸やアルギン酸の併用が、膝 OA 進行抑制効果を示すかを解明することである。

3. 研究の方法

Study 1. 薬剤誘発性膝関節炎モデルラットの作成；

Guingamp らの方法に順じて、雄性 SD ラットを用いて変形性膝関節症モデルを作成する[2]。1997）。具体的には 8 週齢のラットの関節内に Monosodium Iodoacetate (MIA) を投与し薬剤誘発性膝関節症を誘発させる。今回の研究に適した OA を誘発させる MIA の投与方法を明らかにするため、Pilot study として MIA 量を 0.1mg、0.5mg、1mg、2mg とし、投与後 1、2、4 週後に関節軟骨の評価を行う。その結果から Tanezumab 投与開始に適した MIA 量、時期を決定する。

Study 2. Tanezumab 投与量による治療効果および有害事象の検討；

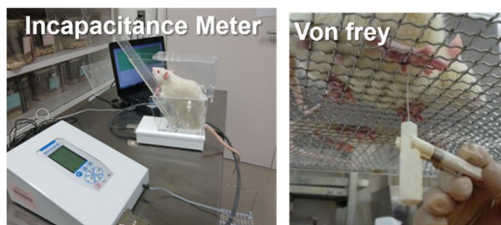
Study 1 で得られた至適濃度の MIA を関節内に投与後、抗 NGF 抗体の投与量を 0、1、10、100 $\mu\text{g/ml}$ の 4 段階に割り振り、またコントロールとして MIA を投与しない群、及び MIA を投与せずに抗 NGF 抗体だけ関節内投与する群を設定した。

- Group 1: MIA (+), 抗 NGF 抗体 (-)
- Group 2: MIA (+), 抗 NGF 抗体 (+) 1 $\mu\text{g/ml}$
- Group 3: MIA (+), 抗 NGF 抗体 (+) 10 $\mu\text{g/ml}$
- Group 4: MIA (+), 抗 NGF 抗体 (+) 100 $\mu\text{g/ml}$
- Group 5: MIA (-), 抗 NGF 抗体 (-)
- Group 6: MIA (-), 抗 NGF 抗体 (+)

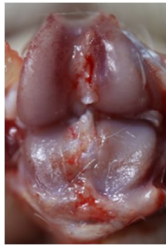
評価項目

荷重変化の検証（Weight bearing test）: Incapacitance Meter（両足圧力差痛覚測定装置）を用いて後足の荷重の患健差を測定し、OA 誘発後の荷重変化の検証を行う[3]。

疼痛閾値の変化の検証：ラットの足底に対して垂直に von Frey Hair が曲がるまで押しつけ、動物が足をあげる機械刺激の閾値（Allodynia）の測定を行う。

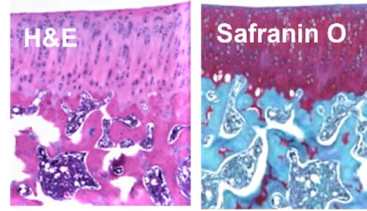


関節症変化の肉眼的評価： Guingamp Likert scale
関節症変化の組織学的評価： Modified Mankin score



Likert scale (Guigamp macroscopic lesions)

Grade
 0 = normal appearance
 1 = slight yellowish discoloration of the chondral surface
 2 = little cartilage erosion in load bearing areas
 3 = large erosions extending down to the subchondral bone
 4 = large erosions with large areas of subchondral bone exposure



Mankin score

I Structure		
A Normal	0	
B Surface irregularities	1	
C Pannus and surface irregularities	2	
D Clefts to transitional zone	3	
E Clefts to radial zone	4	
F Clefts to calcified zone	5	
G Complete disorganization	6	
II Cells		
A Normal	0	
B Diffuse hypercellularity	1	
C Cloning	2	
D Hypocellularity	3	
III Safranin O staining		
A Normal	0	
B Slight reduction	1	
C Moderate reduction	2	
D Severe reduction	3	
IV Tidemark integrity		
A Intact	0	
B Crossed by blood vessels	1	
Total score		0
Minimal		0
Maximal		14

抗 NGF 抗体効果の検証：免疫蛍光染色

Study .Tanezumab 単独投与，ヒアルロン酸，アルギン酸併用による治療効果および有害事象の検討：

Study で得られた結果を基に，変性が進行した抗 NGF 抗体投与群にヒアルロン酸，アルギン酸を併用し変性進行抑制効果があるかを検証する。

4. 研究成果

Study

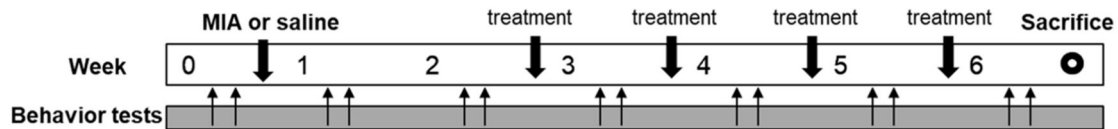
Modified Mankin score (各 N=2)

	MIA 0.1mg	MIA 0.5mg	MIA 1.0mg	MIA 2.0mg
投与後 2 週	4.5	8.5	11.0	12.0
投与後 4 週	6.0	9.5	12.5	13.5

抗 NGF 抗体の効果を見るためには，軽度の変性では痛みを誘発しない可能性があり，また重度の変性では抗 NGF 抗体の鎮痛効果が認められない可能性があることから，中程度の変性が望ましいと考え，MIA の投与量は 0.5mg，抗 NGF 抗体の投与は MIA 投与後 2 週から行うこととした。

Study

Study の結果から，以下のプロトコールとした。

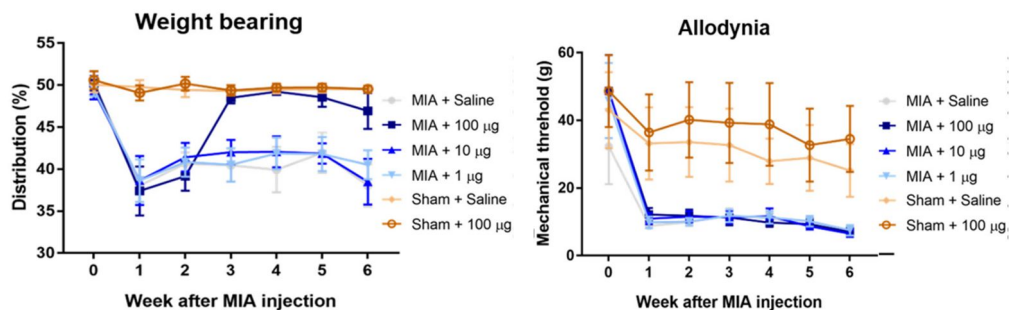


Weight bearing test

抗 NGF 抗体 100 μg 群は抗 NGF 抗体注射後の 3 週から荷重分布に左右差なく，またコントロールと差が無いことから，除痛効果を認めた。しかし，1 μg，10 μg 群では投与後も荷重分布明らかな変化なく，除痛効果は認められなかった。

Allodynia

抗 NGF 抗体投与したいずれの群においても，機械刺激に対する域値の上昇はなく，Allodynia の抑制効果は認めなかった。

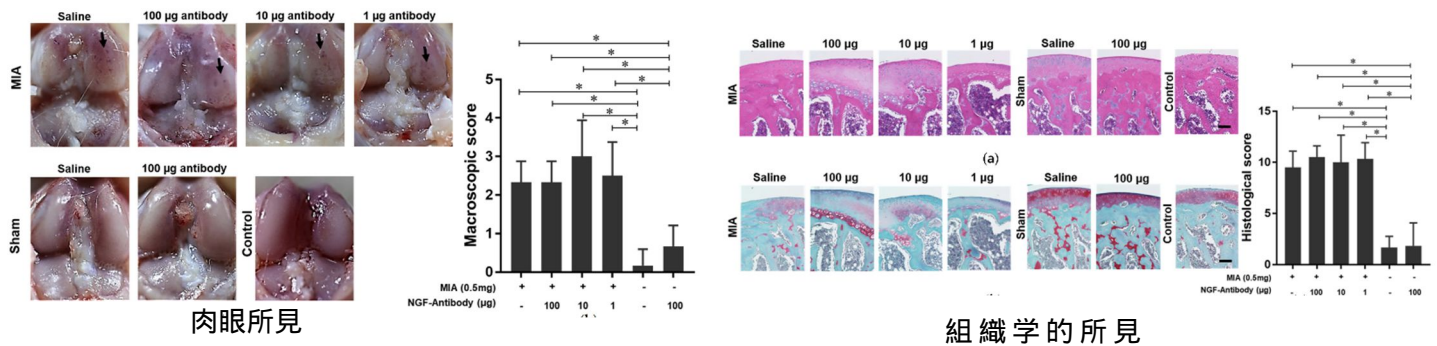


肉眼所見

Likert score に OA コントロールである MIA 単独投与群と抗 NGF 抗体投与群に有意差を認めなかった。

組織学的所見

Midified Mankin score に OA コントロールと抗 NGF 抗体投与群に有意差を認めなかった。



免疫蛍光染色

MIA 単独投与群では滑膜に NGF の集積が認められたが, MIA+抗 NGF100 μg 投与群では NGF の集積が減少しており, 抗 NGF 抗体による NGF の中和作用が確認された。

Study

Study の結果から抗 NGF 抗体の関節内投与により変性変化の増悪は認めなかった。このことは, 抗 NGF 抗体の関節内投与の有用性を示しているが, 一方で, Study で設定したプロトコールではヒアルロン酸, アルギン酸の関節保護作用を検証することは適していないことが明らかになったため, Study は施行しなかった。

本研究結果から得られた知見

抗 NGF 抗体は優れた鎮痛効果を有する薬剤であるが, 末期 OA 患者に全身投与を行うと OA 進行が報告されている。しかし, 本研究の結果から抗 NGF 抗体の関節内投与は, 除痛効果を示すが, Allodynia 抑制と軟骨変性の進行がなかったことから, OA 患者における効果的かつ安全な治療となりうると考えられた。

- [1] Lane NE, Schnitzer TJ, Birbara CA, Mokhtarani M, Shelton DL, Smith MD, et al. Tanezumab for the treatment of pain from osteoarthritis of the knee. *N Engl J Med* 2010;363(16):1521-31. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0901510>.
- [2] Guingamp C, Gegout-Pottie P, Philippe L, Terlain B, Netter P, Gillet P. Monoiodoacetate-induced experimental osteoarthritis: a dose-response study of loss of mobility, morphology, and biochemistry. *Arthritis Rheum* 1997;40(9):1670-9. <https://doi.org/10.1002/art.1780400917>.
- [3] Iwasaki K, Sudo H, Kasahara Y, Yamada K, Ohnishi T, Tsujimoto T, et al. Effects of Multiple Intra-articular Injections of 0.5% Bupivacaine on Normal and Osteoarthritic Joints in Rats. *Arthroscopy* 2016;32(10):2026-36. <https://doi.org/10.1016/j.arthro.2016.02.011>.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tian Yuan, Onodera Tomohiro, Terkawi Mohamad Alaa, Iwasaki Koji, Hishimura Ryosuke, Liang Dawei, Miyazaki Takuji, Iwasaki Norimasa	4. 巻 22
2. 論文標題 Local Administration of Low-Dose Nerve Growth Factor Antibody Reduced Pain in a Rat Osteoarthritis Model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 2552 ~ 2552
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms22052552	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件／うち国際学会 3件）

1. 発表者名 小野寺 智洋, 松原 新史, 松岡 正剛, 岩崎 浩司, 菱村 亮介, 近藤 英司, 安藤 梓, 山本 美幸, 森岡 靖英, 岩崎 倫政
2. 発表標題 人工膝関節置換術の手術侵襲によるNGF濃度変化の検討
3. 学会等名 日本整形外科学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tomohiro Onodera, Shinji Matsubara, Masatake Matsuoka, Koji Iwasaki, Eiji Kondo, Yasuhide Morioka, Norimasa Iwasaki
2. 発表標題 The Effect of Surgical Invasion by Total Knee arthroplasty on intra-articular Nerve Growth Factor (NGF) concentration
3. 学会等名 ORS 2021 Annual meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Y. Tian, T. Onodera, M.A. Terkawi, K. Iwasaki, R. Hishimura, T. Miyazaki, D. Liang, L. Xu, N. Iwasaki
2. 発表標題 Local Administration of Low-Dose Nerve Growth Factor Antibody Reduced Pain in a Rat Osteoarthritis Model
3. 学会等名 ORS 2021 Annual meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Y. Tian, T. Onodera, M.A. Terkawi, K. Iwasaki, R. Hishimura, T. Miyazaki, D. Liang, L. Xu, N. Iwasaki
2. 発表標題 Local administration of low-dose NGF antibody reduced pain in rat osteoarthritis model
3. 学会等名 15th World Congress ICRS (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yuan Tian, Tomohiro Onodera, Mohamad Alaa Terkawi, Koji Iwasaki, Ryosuke Hishimura, Takuji Miyazaki, Dawei Liang, Norimasa Iwasaki
2. 発表標題 変形性関節症ラットモデルにおいてNGF抗体の関節内注射は低用量で除痛効果が得られる
3. 学会等名 第34回日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------