

令和 4 年 5 月 30 日現在

機関番号：37116

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08926

研究課題名(和文) 関節リウマチにおける神経伝達物質ドパミンを起点とした病態解明と新規治療法の開発

研究課題名(英文) Elucidation of pathophysiology and development of new treatments with the neurotransmitter dopamine for rheumatoid arthritis

研究代表者

花見 健太郎 (HANAMI, KENTARO)

産業医科大学・医学部・講師

研究者番号：50441853

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：神経系及び神経伝達物質が免疫系のみならず、骨代謝へも影響を与えている事が報告されている。代表的な神経伝達物質であるドパミンが、関節リウマチ患者炎症性滑膜の樹状細胞にドパミンが豊富に存在する事、ドパミンD1様受容体阻害薬が滑膜炎及び関節破壊を抑制しうる事をSCIDマウスを使ったヒト関節リウマチモデルにおける検討で明らかにし、更にはドパミンD2受容体シグナルが細胞内cAMP-c-Fos-NFATc1を抑制する事で破骨細胞形成を抑制する事を明らかにした。これらの結果より神経伝達物質が、関節リウマチの新規治療方法となり得る可能性、神経伝達物質による関節リウマチに対しての新規治療法の検討を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々の結果からは、炎症性サイトカイン抑制・骨吸収抑制による影響は考えられ、cAMP応答配列を介したwntシグナル修飾も近年報告されており、ドパミンシグナルによるcAMPを介した骨芽細胞形成への直接的な影響も考えられる。ドパミンシグナルによる骨破壊病態への治療応用を想定した際に、骨代謝に対するメカニズムの解明は必須であり、本研究は新規治療への展開にとどまらず、神経と骨免疫のクロストークを解明するブレークスルーとしての可能性を有するため、医学的にも社会的にも多大な意義を持つものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：It has been reported that the nervous system and neurotransmitters affect not only the immune system but also bone metabolism. Dopamine, a typical neurotransmitter, revealed that dopamine is abundant in the dendritic cells of the inflammatory synovium of patients with rheumatoid arthritis. Furthermore, it was clarified that the dopamine D2 receptor signal suppresses the formation of osteoclasts by suppressing the intracellular cAMP-c-Fos-NFATc1. Based on these results, we investigated the possibility that neurotransmitters could be a new treatment method for rheumatoid arthritis, and a new treatment method for rheumatoid arthritis with neurotransmitters.

研究分野：膠原病リウマチ内科学

キーワード：ドパミン受容体シグナル

1. 研究開始当初の背景

関節リウマチは、関節炎病態を主体とする代表的な自己免疫疾患である。実臨床においては、アンカードラッグであるメトトレキサート (MTX) が使用困難な場合、有効性を示す治療方法が限定されていたが、近年、新規 JAK1/2 阻害剤の有効性が、国際共同臨床試験において明らかにされるなど、多方面から関節リウマチ治療方法を開発する事が望まれている。

疫学的に関節リウマチと統合失調症は、互いの疾患リスクと相反する事が述べられてきたが、ゲノムワイド関連解析により、関節リウマチと統合失調症の合併の低い理由が一部のゲノム情報で説明されることが判明した。統合失調症はドパミン受容体シグナルの異常が病態の中心であるため、関節リウマチのリスク遺伝子領域をベースとしたシグナルネットワークの中で、ドパミン受容体シグナルと関節リウマチの関連も示唆される。

2. 研究の目的

ドパミンはノルアドレナリン、アドレナリンの前駆物質であり、特に中枢神経系において主要な神経伝達物質であり、関節リウマチにおけるドパミン受容体シグナルの影響を解明する事は、関節リウマチ病態の解明し、治療抵抗性を改善させる鍵となると考える。我々は、骨破壊病態を中心に関節リウマチに対するドパミンの影響と、新規治療方法となり得るか検討を行った。

3. 研究の方法

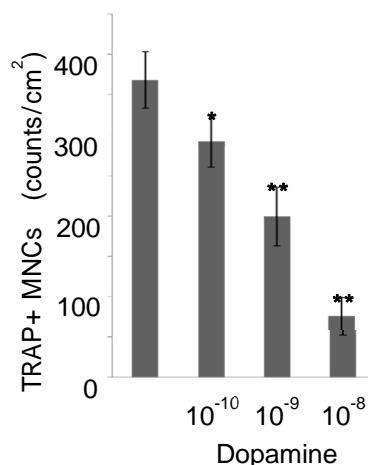
(1) 健常人末梢血 PBMC より単球を分離し、細胞数を調整後 M-CSF 添加。培養開始 4 日目、7 日目、10 日目の M-CSF 及び RANKL と同時にドパミン関連刺激の添加を行いました。破骨細胞の酒石酸耐性特性を利用し、染色陽性細胞を破骨細胞様細胞と評価する TRAP 染色、象牙切片上の骨吸収窩にて骨吸収能を評価する pit formation assay、成熟破骨細胞特異的遺伝子である cathepsin K 発現量を培養開始 14 日目に評価を行った。培養開始 4 日目ドパミン関連刺激及び RANKL 添加開始後の細胞内 cAMP 濃度、破骨細胞分化におけるマスターレギュレーターである NFATc1、NFATc1 誘導転写因子 c-fos 発現量及び核内移行の評価を行った。

(2) Ex vivo において、D2 様受容体作動薬を LPS 誘導骨粗鬆症モデルに連日経口投与後、大腿骨及び脛骨より採取した骨髓液を M-CSF 及び RANKL と培養を行い、培養開始 6 日目に TRAP 染色を行い、マウス骨髓由来破骨細胞形成系への影響を評価した。

4. 研究成果

(1) M-CSF と RANKL 刺激によるヒト単球由来破骨細胞培養誘導系においてドパミン受容体の発現状態の検討をフローサイトメトリーで行った。分離直後のヒト単球の細胞表面上にも D1 から D5 まで全てのドパミン受容体サブタイプが確認され、M-CSF 存在下で破骨細胞前駆細胞にこれらの発現が増強された。

(2) ドパミン添加によるヒト破骨細胞分化の影響を検討したところ、ドパミンは 100 pmol/ml 程度の低用量から用量依存的に TRAP 陽性破骨細胞様細胞を有意に減少させた (下図)。D1 様、D2 様受容体のいずれのサブグループによるシグナルが破骨細胞分化を抑制するかを検討するために、D1 様受容体作動薬、D2 様受容体作動薬を添加したところ、D2 様受容体作動薬はドパミン添加時と同様に破骨細胞分化を強く抑制したが、D1 様受容体作動薬添加は、破骨細胞分化に影響を及ぼさなかった。D2 様受容体阻害薬で前処理をした場合、ドパミンによる破骨細胞分化抑制効果は阻害された。



(3) ドパミン D2 様受容体作動薬を添加した場合、破骨細胞の骨吸収活性を示す特異的遺伝子であるカテプシン K の mRNA レベルが有意に抑制すると同時に、pit formation assay においても象牙切片上骨吸収窩面積の抑制が確認され、ドパミン D2 様受容体シグナルは破骨細胞の分化だけでなく機能も阻害する事が示された(下表)。

	Control	Dopamine	D2R-agonist#1	D2R-agonist#2
TRAP (count/cm ²)	284 ± 20	96 ± 16	112 ± 24	64 ± 16
Cathepsin K-mRNA (Relative expression)	1523	1107	886	952
Pit formation (% of pit area)	13.2	0.26	0.33	0.34

(4) 破骨細胞分化の確立されたマスターレギュレーターである NFATc1 の発現と転写誘導には c-Fos が重要な役割を担う。一方で、c-Fos は種々の細胞において細胞内 cAMP によって発現が誘導されることが知られるため、培養開始後 4 日目のヒト破骨細胞前駆細胞への RANKL 刺激 15 分後の細胞内 cAMP 濃度、2 時間後の c-Fos mRNA、24 時間後の NFATc1 mRNA の発現を調べたところ、ドパミン及びドパミン D2 受容体作動薬の添加により、これらの RANKL 依存性濃度上昇/発現誘導は有意に抑制された。以上からドパミン D2 様受容体シグナルは、細胞内 cAMP、c-Fos、NFATc1 経路を抑制することで、直接的にヒト破骨細胞形成を阻害することが示された。

(5) Ex vivo の検討では、D2 様受容体阻害薬を投与した LPS 誘発骨粗鬆症モデルマウスでは、骨髓由来破骨細胞形成が抑制する事が示され、生体内においても D2 様受容体シグナルは破骨細胞分化を抑制し得ることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11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 Kanda Ryuichiro, Kubo Satoshi, Nakano Kazuhisa, Kawabe Akio, Nawata Aya, Hanami Kentaro, Nakayamada Shingo, Tanaka Yoshiya	4. 巻 4
2. 論文標題 A case of eosinophilic granulomatosis with polyangiitis as a mimicker of IgG4-related disease	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Modern Rheumatology Case Reports	6. 最初と最後の頁 278 ~ 282
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/24725625.2020.1759200	査読の有無 有
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 -
1. 著者名 Miyagawa Ippei, Nakano Kazuhisa, Nakayamada Shingo, Iwata Shigeru, Hanami Kentaro, Fukuyo Shunsuke, Kubo Satoshi, Kawabe Akio, Miyazaki Yusuke, Inoue Yoshino, Ueno Masanobu, Ohkubo Naoaki, Fujita Yuya, Tanaka Yoshiya	4. 巻 23
2. 論文標題 The additive effects of hydroxychloroquine to maintenance therapy with standard of care in patients with systemic lupus erythematosus	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Rheumatic Diseases	6. 最初と最後の頁 549 ~ 558
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1756-185X.13792	査読の有無 有
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 -
1. 著者名 Yamaguchi Ayako, Hirata Shintaro, Kubo Satoshi, Fukuyo Shunsuke, Hanami Kentaro, Nakano Kazuhisa, Nakayamada Shingo, Saito Kazuyoshi, Tanaka Yoshiya	4. 巻 30
2. 論文標題 5-year remission rate after the discontinuation of adalimumab in patients with rheumatoid arthritis: Long-term follow-up results of the HONOR study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Modern Rheumatology	6. 最初と最後の頁 799 ~ 806
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/14397595.2019.1702141	査読の有無 有
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 -
1. 著者名 Nakano Kazuhisa, Saito Kazuyoshi, Nawata Aya, Hanami Kentaro, Kubo Satoshi, Miyagawa Ippei, Fujino Yoshihisa, Nakayamada Shingo, Tanaka Yoshiya	4. 巻 31
2. 論文標題 Clinical aspects in patients with rheumatoid arthritis complicated with lymphoproliferative disorders without regression after methotrexate withdrawal and treatment for arthritis after regression of lymphoproliferative disorders	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Modern Rheumatology	6. 最初と最後の頁 94 ~ 100
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/14397595.2020.1741870	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Nakano K, Saito K, Nawata A, Hanami K, Kubo S, Miyagawa I, Fujino Y, Nakayamada S, Tanaka Y.	4. 巻 27
2. 論文標題 Clinical aspects in patients with rheumatoid arthritis complicated with lymphoproliferative disorders without regression after methotrexate withdrawal and treatment for arthritis after regression of lymphoproliferative disorders.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mod Rheumatol.	6. 最初と最後の頁 1-7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/14397595.2020.1741870.	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Miyagawa I, Nakano K, Nakayamada S, Iwata S, Hanami K, Fukuyo S, Kubo S, Kawabe A, Miyazaki Y, Inoue Y, Ueno M, Ohkubo N, Fujita Y, Tanaka Y.	4. 巻 23(4)
2. 論文標題 The additive effects of hydroxychloroquine to maintenance therapy with standard of care in patients with systemic lupus erythematosus.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int J Rheum Dis.	6. 最初と最後の頁 549-558
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1756-185X.13792.	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Yamaguchi A, Hirata S, Kubo S, Fukuyo S, Hanami K, Nakano K, Nakayamada S, Saito K, Tanaka Y.	4. 巻 15
2. 論文標題 5-year remission rate after the discontinuation of adalimumab in patients with rheumatoid arthritis: Long-term follow-up results of the HONOR study.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mod Rheumatol.	6. 最初と最後の頁 1-8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/14397595.2019.1702141.	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Ueno M, Miyagawa I, Nakano K, Iwata S, Hanami K, Fukuyo S, Kubo S, Miyazaki Y, Kawabe A, Yoshinari H, Nakayamada S, Tanaka Y.	4. 巻 23(1)
2. 論文標題 Effectiveness and safety of mepolizumab in combination with corticosteroids in patients with eosinophilic granulomatosis with polyangiitis.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Arthritis Res Ther.	6. 最初と最後の頁 86
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13075-021-02462-6.	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Miyazaki Y, Nakano K, Nakayamada S, Kubo S, Iwata S, Hanami K, Fukuyo S, Miyagawa I, Yamaguchi A, Kawabe A, Saito K, Tanaka Y.	4. 巻 23(1)
2. 論文標題 Serum TNF levels at 24 h after certolizumab pegol predict effectiveness at week 12 in patients with rheumatoid arthritis from Tsubame study.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Arthritis Res Ther.	6. 最初と最後の頁 154
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13075-021-02547-2.	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Ohkubo N, Iwata S, Nakano K, Miyagawa I, Hanami K, Fukuyo S, Miyazaki Y, Kawabe A, Nakayamada S, Tanaka Y.	4. 巻 roab
2. 論文標題 Efficacy and Safety of High-Dose of Mycophenolate Mofetil Compared With Cyclophosphamide Pulse Therapy as Induction Therapy in Japanese Patients with Proliferative Lupus Nephritis.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Mod Rheumatol.	6. 最初と最後の頁 113
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/mr/roab113.	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Miyazaki Y, Nakayamada S, Sonomoto K, Akio K, Inoue Y, Okubo N, Iwata S, Hanami K, Tanaka Y.	4. 巻 keab
2. 論文標題 Efficacy and safety of belimumab during maintenance therapy in patients with systemic lupus erythematosus.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Rheumatology (Oxford).	6. 最初と最後の頁 953
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/rheumatology/keab953.	査読の有無 有
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0件

〔図書〕 計1件

1. 著者名 日本リウマチ財団教育研修委員会、日本リウマチ学会生涯教育委員会	4. 発行年 2022年
2. 出版社 南江堂	5. 総ページ数 608
3. 書名 リウマチ病学テキスト (改訂第3版)	

〔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
研究 分 担 者	田中 良哉 (TANAKA YOSHIYA) (30248562)	産業医科大学・医学部・教授 (37116)	

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