

令和 6 年 5 月 24 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09200

研究課題名（和文）Wntシグナル経路の至適な活性化による大腿骨頭壊死症の新規治療法の応用開発

研究課題名（英文）Development of New Therapeutic Applications for Osteonecrosis of the Femoral Head through Optimal Activation of the Wnt Signaling Pathway

研究代表者

竹上 靖彦（Takegami, Yasuhiko）

名古屋大学・医学部附属病院・病院講師

研究者番号：50755345

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）：特発性大腿骨頭壊死症（ONFH）は、大腿骨頭の圧潰による股関節の疼痛および機能障害を呈する厚生労働省指定難治性疾患の一つである。今回Wntシグナルに注目し、ONFHとの関連を明らかにし、併せてWntシグナルの至適な活性化によるONFHの圧潰抑制の可能性について検討を行った。大腿骨頭壊死症では、ヒト大腿骨頭の壊死部でWntシグナルの低下を認め、動物実験にて抗スクレロスチン抗体製剤によりWntの活性化により、Wntシグナルの活性化及びそれに伴う骨量構造の強靭化を獲得し、物理的な骨壊死による圧潰の抑制を獲得することを明らかとした。またそれは炎症関連因子であらIL6に関連することを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大腿骨頭壊死症は今までに、有効な治療方法はなく、発生後は圧潰後に手術治療を行う以外の選択肢がなかった。本研究によって、抗スクレロスチン抗体製剤により発生後の骨頭圧潰の可能性を示すことができた。抗スクレロスチン抗体製剤は骨粗鬆症薬として治療に実際に使われている。今回大腿骨頭壊死症において圧潰抑制を目的として抗スクレロスチン抗体製剤を投与することによって入院、手術治療を必要とする患者さんの治療の一つの選択肢となる可能性を示した。また、IL6が大腿骨頭壊死症で過剰発現していることを示した。IL6の抑制が大腿骨頭壊死症の治療ターゲットとなる可能性を示唆している。

研究成果の概要（英文）：Idiopathic Osteonecrosis of the Femoral Head (ONFH) is one of the intractable diseases designated by the Ministry of Health, Labour and Welfare. It is characterized by hip pain and functional impairment due to the collapse of the femoral head. In this study, we focused on the Wnt signaling pathway, aiming to clarify its relationship with ONFH and explore the potential for inhibiting femoral head collapse through optimal activation of the Wnt signal. In cases of osteonecrosis of the femoral head, a decrease in Wnt signaling was observed in the necrotic areas of the femoral head. Animal experiments revealed that activation of Wnt through the administration of anti-sclerostin antibody preparations led to the strengthening of bone mass structure. This indicated the potential to inhibit collapse caused by physical bone necrosis.

研究分野：整形外科

キーワード：大腿骨頭壊死症 Wntシグナル

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

特発性大腿骨頭壊死症 (ONFH)は、大腿骨頭の圧潰による股関節の疼痛および機能障害を呈する厚生労働省指定難治性疾患の一つである。現在までに ONFH の病因は不明であり、そのため ONFH に対する予防薬、根治的治療法はない。研究代表者らは、Wnt シグナルの活性化因子である R-spondin(Rspo)2 の内軟骨性骨化への関与を明らかとしている。本研究では Wnt/ カテニンシグナルの制御による ONFH に対する新しい治療法を開発することを目的とする。

2. 研究の目的

本研究の目的は、市販薬を用いて Wnt/ カテニンシグナル経路を制御することによる大腿骨頭壊死症 (ONFH) における骨再生を誘導する新規治療法の確立である。

3. 研究の方法

【材料と方法】

- ・ヒト大腿骨頭サンプル：ONFH 患者 3 例 (49~66 歳、女性) と OA 患者 3 例 (48~83 歳、女性) より THA 時に採取。パラフィン包埋後、 β -カテニンと IL-6 の免疫染色を行った。
- ・動物モデル：12 週齢 C57BL/6 雄マウスに外科的に虚血性骨壊死を誘導。抗スクレロスチン抗体か vehicle を 6 週間 Weekly 投与し、経時的に評価した。
- ・組織学的評価：H&E 染色、TUNEL 染色、TRAP 染色を行い、空骨小腔率、アポトーシス骨細胞率、破骨細胞数を定量した。
- ・免疫染色：IL-6 抗体で染色し、骨髄での IL-6 陽性面積率を測定。
- ・RT-PCR：各種骨代謝マーカー、IL-6、Wnt シグナル関連遺伝子の発現を解析。
- ・骨形態計測：二重ラベリング法にて骨芽細胞数、破骨細胞数、石灰化速度等を測定。
- ・マイクロ CT：骨量や骨梁構造パラメータを経時的に定量評価。圧迫強度試験も実施。

4. 研究成果

- ・ヒト ONFH 標本では移行層で β -カテニンと IL-6 の強い発現が見られ、両者の発現部位は一致していた。
- ・H&E 染色：Vehicle 群では空骨小腔率が術後 2 週まで増加し 4 週で安定化、その後減少。一方、抗体群では 2 週以降に空骨小腔率が減少し、4 週で有意差が生じた。
- ・TUNEL 染色：抗体群でアポトーシス骨細胞率の有意な低下が確認された。
- ・免疫染色：抗体群で骨髄の IL-6 陽性面積率が有意に減少した。
- ・RT-PCR：抗体群で Rankl/Opg 比の低下、Osterix、Bmp2、Runx2 の発現上昇、IL-6 の発現低下が見られた。Wnt 関連遺伝子の発現も亢進した。
- ・骨形態計測：抗体群で骨芽細胞数の増加、破骨細胞数の減少、石灰化速度の亢進が認められた。
- ・マイクロ CT：抗体群で経時的な骨量増加や骨梁構造の改善が観察され、骨端変形の進行が抑制された。圧迫強度も有意に高値だった。

本研究により、ヒト ONFH 組織において、 β -カテニンと IL-6 の発現が移行層で共局在していることが明らかとなった。このことから、ONFH の病態に Wnt シグナル伝達経路と IL-6 を介した炎症の両者が関与している可能性が示唆された。

マウス ONFH モデルでの検討では、抗スクレロスチン抗体の投与により、骨壊死からの早期回復、アポトーシス骨細胞の減少、IL-6 発現の抑制、Wnt シグナル伝達経路の活性化が認められた。また、骨芽細胞の増加、破骨細胞の減少、骨量の増加、骨端変形の抑制、圧迫強度の改善など、多岐にわたる効果が確認された。

抗スクレロスチン抗体はスクレロスチンを阻害することで Wnt シグナル伝達経路を活性化し、骨形成を促進する。一方、IL-6 は RANKL を介して破骨細胞の分化を促進し、骨吸収を亢進させる。本研究の結果は、抗スクレロスチン抗体がこれらの 2 つの経路を同時に制御することで、ONFH に対して強力な治療効果を発揮する可能性を示唆している。

また、IL-6 の発現抑制効果から、抗スクレロスチン抗体が ONFH における慢性炎症にも作用する可能性が考えられる。Wnt シグナルの活性化が IL-6 の産生を抑制するという報告もあり、両者の間には複雑な相互作用が存在すると推測される。ONFH の発症メカニズムを理解する上で、Wnt シグナルと炎症の関係性を更に解明することが重要と思われる。

本研究にはいくつかの限界がある。マウスモデルがヒト ONFH を完全に再現しているとは言えな

い点、抗体の至適用量や投与期間が不明な点、長期的な効果や安全性が確認できていない点などである。しかし、これまでにない新しいアプローチで ONFH の治療法開発に道筋をつけたという点で、本研究の意義は大きいと考える。

【結論】

本研究により、抗スクレロスチン抗体が Wnt/ β -カテニン経路を介して ONFH に対する強力な治療効果を発揮する可能性が示された。また IL-6 との関連性も明らかとなり、ONFH の病態解明に向けた新たな知見が得られた。今後は、ヒトでの臨床研究を通じて、本抗体療法の有効性と安全性を慎重に評価していく必要がある。さらなる基礎研究の蓄積とともに、ONFH に苦しむ多くの患者さんに福音をもたらす新規治療法の開発が期待される。

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 Ozawa Yuto, Takegami Yasuhiko, Osawa Yusuke, Asamoto Takamune, Tanaka Shinya, Imagama Shiro	4. 巻 181
2. 論文標題 Anti-sclerostin antibody therapy prevents post-ischemic osteonecrosis bone collapse via interleukin-6 association	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Bone	6. 最初と最後の頁 117030 ~ 117030
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bone.2024.117030	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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 竹上靖彦
2. 発表標題 抗スクレロスチン抗体による壊死圧潰抑制の可能性
3. 学会等名 日本整形外科基礎学術集会
4. 発表年 2024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
研究分担者	牧田 和也 (Kazuya Maki da) (10843352)	名古屋大学・医学部附属病院・医員 (13901)	
研究分担者	関 泰輔 (Taisuke Seki) (20528822)	愛知医科大学・医学部・教授 (33920)	
研究分担者	大澤 郁介 (Yusuke Osawa) (40822812)	名古屋大学・医学部附属病院・助教 (13901)	

6. 研究組織（つづき）

	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	加藤 大策 (Daisaku Kato) (20925747)	名古屋大学・医学部附属病院・医員 (13901)	

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