

令和 6 年 5 月 24 日現在

機関番号：12601
研究種目：基盤研究(C)（一般）
研究期間：2021～2023
課題番号：21K09294
研究課題名（和文）網羅的発現解析と一細胞解析を駆使した関節疾患における慢性疼痛の発生機序の解明

研究課題名（英文）Analysis of the mechanism of chronic pain in joint diseases using comprehensive expression analysis and single cell analysis.

研究代表者
武富 修治（Taketomi, Shuji）

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：70570018
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）：変形性関節症や関節リウマチなどの関節疾患に伴う慢性疼痛には神経障害性疼痛の機序が関与することが近年報告されている。我々は関節炎モデルマウス（CAIAモデル）で生じるアロディニアに対して、JAK-STAT pathway阻害薬の内服が有効であることを見出した。RNA-seqを用いた後根神経節（DRG）の遺伝子発現解析では、対象群であるNSAIDsと比較して、DRGにおける炎症や免疫に関連する遺伝子発現を有意に抑制し、非関節炎群に近似した発現状態に改善させていることを解明した。さらに組織学的解析では、脊髄におけるグリア細胞活性が抑制されることも示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

国内の変形性関節症患者数は2,530万人に上り、痛みを苦しむ患者数は780万人と推定されているが、長期的に有効となる鎮痛剤がない。関節リウマチも国内の患者数は100万人程と推定されており、生物学的製剤の登場により関節破壊が重症化する患者は激減したが、それでも痛みがコントロールできない患者は多く残されており、いずれもアンメットニーズである。本研究は関節炎により伴う慢性疼痛の機序の解明ならびに責任分子を同定することで、新たな治療的に対する臨床応用への足掛かりとなりアンメットニーズを解決できる可能性を秘めている。

研究成果の概要（英文）：Recent reports suggest that the neuropathic pain is involved in the mechanism of the chronic pain associated with joint diseases such as osteoarthritis and rheumatoid arthritis. We have found that the oral administration of JAK-STAT pathway inhibitors was effective in reducing allodynia in a mouse model of arthritis (CAIA model). Gene expression analysis of dorsal root ganglia (DRG) using RNA-seq revealed that, compared to the control group treated with NSAIDs, the JAK-STAT pathway inhibitors significantly suppressed the expression of genes related to inflammation and immunity in the DRG, bringing the expression levels closer to those seen in the non-arthritis group. Furthermore, histological analysis showed that the activation of glial cells in the spinal cord was also suppressed.

研究分野：整形外科

キーワード：関節炎モデル 慢性疼痛 神経障害性疼痛 後根神経節 JAK-STAT pathway

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

変形性関節症(OA)や関節リウマチ(RA)の関節痛の発症メカニズムは複雑であり、現在も解明されていない部分が多いが、特に慢性疼痛については不明な点が多く、治療手段も限られている。OA や RA における痛みは、炎症や関節の構造変化に伴う過度の力学的負荷による侵害受容性疼痛が主体とされてきたが、近年では神経障害性疼痛の関与も報告され、RA における痛みも同様と考えられている。関節疾患に付随する神経障害性疼痛には末梢性と中枢性の 2 つの機序が存在し、末梢性機序は発症早期の疼痛に、中枢性機序は慢性疼痛に、それぞれ関連するとされる。OA や RA による慢性疼痛と、中枢性の神経障害性疼痛との関連を解明することは、関節疾患の痛みのマネジメント、新規治療法の開発にとって不可欠と考えられる。

神経障害性疼痛において、JAK-STAT 経路の関与を示唆する報告が散見されるが、申請者らはこれまでの基礎検討にて、JAK-STAT の内服阻害によって CAIA モデルマウスにおける神経障害性疼痛の機序による疼痛閾値の低下(アロディニア)が軽減されることを突き止めた。本結果から JAK-STAT pathway が関節疾患由来の慢性疼痛の発症機序に関わりうる可能性が示唆されたため、その詳細なメカニズムを解明することで新たな治療戦略の糸口となることを期待し研究を計画した。

2. 研究の目的

本研究は、関節疾患のより発症する慢性疼痛の発症メカニズムを、最新の研究機器や技術による分子生物学的解析により解明することで、新たな治療標的の探索並びに将来の臨床応用を目的とした。

3. 研究の方法

8 から 10 週齢のオスの DBA/1 マウスに対して CAIA 関節炎を惹起し、JAK-STAT 阻害薬を内服投与させ、関節炎や疼痛行動を確認し、マウスの組織を用いた発現解析を行った。対象群として、関節炎を惹起し鎮痛剤である NSAIDs を内服させた群 (NSAIDs 群)、vehicle を内服させた群 (CAIA 群)、関節炎を惹起せず vehicle を内服させた群 (Control 群) を設定し、JAK-STAT 阻害薬を内服投与させた群 (JAK 群) の 4 群比較を行った。

CAIA 関節炎の程度の評価には、関節炎の程度を目視で評価する関節炎スコアを用い、HE 染色とサフラニン 0 染色による組織学的評価も併用した。疼痛行動の評価には関節炎の程度と相関することが知られている Grip strength score と、アロディニアを反映する von frey test を用いた。マウスの組織を用いた発現解析では、関節炎がピークとなる抗体投与 8 日後と、関節炎がピークを越える一方でアロディニアが完成する 14 日後の組織を解析対象とした。後根神経節 (DRG) では組織全体の遺伝子発現変化を網羅的に確認するため RNA シークエンス解析を行った。脊髄は免疫組織染色を用いた発現解析を行った。

4. 研究成果

CAIA 関節炎に対して両薬剤は関節炎の程度を同等に抑制していた。疼痛行動では、grip strength test では両薬剤が同等に疼痛行動を改善させた一方で、von frey test では JAK 群が NSAIDs 群よりも有意にアロディニアを抑制していた。DRG を用いた RNA シークエンスでは、CAIA

群は Control 群と比較し、炎症や免疫に関連する遺伝子群の発現を変化させており、JAK 群は NSAIDs 群よりも有意にそれらの発現変化を抑制していた。特に TNF や IL-6、インターフェロン / などのサイトカインによる遺伝子変化を有意に抑制させていた。脊髄の免疫組織染色では、脊髄のグリア細胞の評価を行い、神経障害性疼痛の発症と関連することが知られているアストロサイト活性を、JAK 群は NSAIDs 群よりも有意に抑制していた。

本研究では、関節炎モデル・CAIA モデルマウスで生じるアロディニアに対して、JAK-STAT pathway 阻害薬の内服が有効であることを見出した。RNA-seq を用いた後根神経節 (DRG) の遺伝子発現解析では、対象群である NSAIDs と比較して、DRG における炎症や免疫に関連する遺伝子発現を有意に抑制し、非関節炎群に近似した発現状態に改善させた。さらに組織学的解析では、脊髄におけるグリア細胞活性が抑制されることも示した。今後さらに 1 細胞解析による詳細なクラスター解析を行っていく。関節リウマチの治療では生物学的製剤の登場により関節破壊が重症化する患者は激減したが、それでも痛みがコントロールできない患者は多く残されており、本研究によって関節炎に伴う慢性疼痛の機序の一端が明らかになり、今後の治療戦略の一助となる可能性があると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 1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 Nakamoto Hideki, Katanosaka Yuki, Chijimatsu Ryota, Mori Daisuke, Xuan Fengjun, Yano Fumiko, Omata Yasunori, Maenohara Yuji, Murahashi Yasutaka, Kawaguchi Kohei, Yamagami Ryota, Inui Hiroshi, Taketomi Shuji, Taniguchi Yuki, Kanagawa Motoi, Naruse Keiji, Tanaka Sakae, Saito Taku	4. 巻 73
2. 論文標題 Involvement of Transient Receptor Potential Vanilloid Channel 2 in the Induction of Lubricin and Suppression of Ectopic Endochondral Ossification in Mouse Articular Cartilage	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Arthritis & Rheumatology	6. 最初と最後の頁 1441 ~ 1450
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/art.41684	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 Omata Yasunori, Frech Michael, Saito Taku, Schett Georg, Zaiss Mario M., Tanaka Sakae	4. 巻 23
2. 論文標題 Inflammatory Arthritis and Bone Metabolism Regulated by Type 2 Innate and Adaptive Immunity	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 1104 ~ 1104
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms23031104	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 -
1. 著者名 Kaneko Taizo, Horiuchi Keisuke, Chijimatsu Ryota, Mori Daisuke, Nagata Kosei, Omata Yasunori, Yano Fumiko, Inui Hiroshi, Moro Toru, Tanaka Sakae, Saito Taku	4. 巻 40
2. 論文標題 Regulation of osteoarthritis development by ADAM17/Tace in articular cartilage	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Bone and Mineral Metabolism	6. 最初と最後の頁 196 ~ 207
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00774-021-01278-3	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 -
1. 著者名 Tachibana N, Chijimatsu R, Okada H, Oichi T, Taniguchi Y, Maenohara Y, Miyahara J, Ishikura H, Iwanaga Y, Arino Y, Nagata K, Nakamoto H, Kato S, Doi T, Matsubayashi Y, Oshima Y, Terashima A, Omata Y, Yano F, Maeda S, Ikegawa S, Seki M, Suzuki Y, Tanaka S, Saito T	4. 巻 8
2. 論文標題 RSP02 defines a distinct undifferentiated progenitor in the tendon/ligament and suppresses ectopic ossification	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eabn2138
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.abn2138	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 -

1. 著者名 Chijimatsu Ryota, Miwa Satoshi, Okamura Gensuke, Miyahara Junya, Tachibana Naohiro, Ishikura Hisatoshi, Higuchi Junya, Maenohara Yuji, Tsuji Shinsaku, Sameshima Shin, Takagi Kentaro, Nakazato Keiu, Kawaguchi Kohei, Yamagami Ryota, Inui Hiroshi, Taketomi Shuji, Tanaka Sakae, Saito Taku	4. 巻 12
2. 論文標題 Divergence in chondrogenic potential between in vitro and in vivo of adipose- and synovial-stem cells from mouse and human	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Stem Cell Research & Therapy	6. 最初と最後の頁 405
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13287-021-02485-5	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 -

1. 著者名 Watanabe Hisato, Okada Hiroyuki, Hirose Jun, Omata Yasunori, Matsumoto Takumi, Matsumoto Morio, Nakamura Masaya, Saito Taku, Miyamoto Takeshi, Tanaka Sakae	4. 巻 6
2. 論文標題 Transcription Factor Hematopoietically Expressed Homeobox Protein (Hhex) Negatively Regulates Osteoclast Differentiation by Controlling Cyclin Dependent Kinase Inhibitors	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 JBMR Plus	6. 最初と最後の頁 e10608
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jbm4.10608	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11件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 真壁健太、小俣康徳、浅香明子、柳原大、千々松良太、矢野文子、田中栄、齋藤琢
2. 発表標題 抗コラーゲン抗体関節炎マウスを用いたBaricitinibの疼痛抑制作用の解析
3. 学会等名 第36回日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 真壁健太、小俣康徳、岡田寛之、渡邊寿人、松本卓巳、田中栄
2. 発表標題 抗コラーゲン抗体関節炎マウスで発症する疼痛に対するBaricitinib の作用機序の解析
3. 学会等名 第66回日本リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 真壁健太, 小俣康徳, 岡田寛之, 千々松良太, 寺島明日香, 矢野文子, 田中栄, 齋藤琢.
2. 発表標題 抗コラーゲン抗体関節炎マウスに生じる慢性疼痛に対するBaricitinibの抑制作用の解析
3. 学会等名 第40回日本骨代謝学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 真壁健太, 小俣康徳, 岡田寛之, 千々松良太, 寺島明日香, 矢野文子, 田中栄, 齋藤琢
2. 発表標題 抗コラーゲン抗体関節炎マウスに残存する慢性疼痛に対するBaricitinibの抑制作用の解析
3. 学会等名 第21回運動器科学研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kenta Makabe, Yasunori Omata, Hiroyuki Okada, Ryota Chijimatsu, Asuka Terashima, Fumiko Yano, Sakae Tanaka, Taku Saito
2. 発表標題 Baricitinib Ameliorates Residual Neuropathic Pain in Collagen Antibody-Induced Arthritis Mice by Suppressing Inflammation of the Dorsal Root Ganglion
3. 学会等名 ACR Convergence 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 齋藤琢
2. 発表標題 変形性関節症の分子機序
3. 学会等名 第49回日本関節病学会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 齋藤琢
2. 発表標題 変形性関節症の分子病態から見たPRP/APSと幹細胞治療
3. 学会等名 第36回日本整形外科学会基礎学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 齋藤琢
2. 発表標題 脂肪由来幹細胞を用いた変形性関節症治療
3. 学会等名 第94回日本整形外科学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ishikura H, Chijimatsu R, Okada H, Suzuki Y, Miyahara J, Omata Y, Yano F, Tanaka S, Saito T
2. 発表標題 Motion is essential to maintain the synovial condition and joint homeostasis.
3. 学会等名 ASBMR 2021 Annual Meeting（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tachibana N, Chijimatsu R, Okada H, Oichi T, Taniguchi Y, Miyahara J, Ishikura H, Nagata K, Nakamoto H, Kato S, Doi T, Matsubayashi Y, Oshima Y, Omata Y, Yano F, Maeda S, Ikegawa S, Tanaka S, Saito T
2. 発表標題 Rspo2/Prg4-positive cells contribute ligament/tendon homeostasis through suppression of ectopic endochondral ossification.
3. 学会等名 ASBMR 2021 Annual Meeting（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 石倉久年、千々松良太、岡田寛之、鈴木謙、宮原潤也、小俣康徳、矢野文子、田中栄、齋藤琢
2. 発表標題 Motion is essential to maintain synovial condition and joint homeostasis.
3. 学会等名 第39回日本骨代謝学会学術集会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>東京大学医学部附属病院 整形外科・脊椎外科 http://www.u-tokyo-ortho.jp/</p>

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	齋藤 琢 (Saito Taku) (30456107)	東京大学・医学部附属病院・准教授 (12601)	
研究分担者	小俣 康徳 (Omata Yasunori) (40570734)	東京大学・医学部附属病院・特任准教授 (12601)	
研究分担者	乾 洋 (Inui Hiroshi) (60583119)	東京大学・医学部附属病院・届出研究員 (12601)	

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
---------	---------