

令和元年5月13日現在

機関番号：32644

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10919

研究課題名(和文) multiple チロシンキナーゼ受容体阻害剤の関節軟骨修復効果の検討

研究課題名(英文) Inhibitory effect of the multiple receptor tyrosine kinase inhibitor on osteoarthritis

研究代表者

長井 敏洋 (NAGAI, Toshihiro)

東海大学・医学部・講師

研究者番号：20514376

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、日本白色家兔をもちいた変形性関節症(OA)モデルに対して、近年国内で開発され承認販売されているVEGFやFGFなどのチロシンキナーゼ受容体に対する阻害薬(mRTKs inhibitor)の投与による関節修復効果の検討をした。正常家兔へのmRTKs inhibitorの内服投与による下痢や嘔吐などの副作用の出現は認めなかった。家兔OAモデルへの投与により軟骨変性や骨棘や滑膜炎の抑制効果を組織評価で認め、incapacitance testerを用いた患肢荷重配分比より疼痛軽減効果も示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

変形性関節症(OA)はその進行予防が極めて重要であるが、末期OAに至るまでの初期から中等度OAに対する薬物療法は、疼痛改善を主眼としており軟骨変性を抑制し疾患の進行を抑止しうるには至らず、OAの進行が余儀なくされている。mRTKs inhibitorは疼痛改善効果のみならず、良好な関節軟骨修復効果(軟骨変性抑制効果と滑膜炎抑制効果と骨棘形成抑制効果)が見込まれ、病勢を抑止する可能性がある新規の治療法である。

研究成果の概要(英文)：We investigated the efficacy of a multiple receptor tyrosine kinase (mRTKs) inhibitor which was developed in Japan, in the treatment of osteoarthritis (OA) using a rabbit model of ACLT. mRTKs had no negative effect (e.g., diarrhea and vomiting) in normal rabbits. Histologically, administration of mRTKs group exhibited a reduction in articular cartilage degeneration and less osteophyte formation and synovitis compared with the control group (OA group). And assessment of pain behavior showed a superior effect in the administration of mRTKs group compared with the OA group 12 weeks after administration of mRTKs.

研究分野：整形外科

キーワード：関節軟骨修復 変形性関節症 血管新生阻害剤

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

変形性関節症(OA)に対しての再生医療への試みは国内外で多数の報告が散見される。しかし、その多くは関節全体で生じる病態であるにもかかわらず、関節軟骨に対してのみの細胞並びに組織移植法による限局的な修復方法である。そして、その細胞や組織移植療法においても組織採取の問題、移植片の安全性の問題、一定のクオリティーをもった移植片の供給など、実に臨床応用へは高いハードルが存在する。OAは加齢や外傷により関節内で炎症が生じ、軟骨下骨からの血管新生による骨硬化と軟骨変性そしてその軟骨周囲には骨棘の形成が生じる。滑膜においても血管新生やマクロファージ、リンパ球の浸潤により滑膜炎を呈する。また、その異常な血管新生は innervation を生じ疼痛を引き起こす。血管新生に代表される血管内皮増殖因子(VEGF)はOAに関与し、われわれはすでに日本白色家兎を用いたOAモデルに対して抗VEGF抗体(Bevacizumab)の静脈内投与や関節内投与による滑膜、軟骨下骨、関節軟骨への多方面にわたる作用により、関節全体で良好な修復効果と疼痛改善効果を有すると報告した。近年、国内で開発された血管新生に關与するVEGFやFGFなどのチロシンキナーゼ受容体に対する阻害薬(mRTKs inhibitor)が甲状腺癌に保険適応された。本研究は、経口投与可能なmRTKs inhibitorによる関節軟骨修復効果を検討することであり、新規のOAに対する治療法を目指すものである。

2. 研究の目的

日本白色家兎OAモデルを作製し、mRTKs inhibitorの経口投与による効果を検討すること。

(1) mRTKs inhibitorは下痢や嘔吐や経口摂取不良などの消化器症状の副作用が報告されている。mRTKs inhibitorの投薬による副作用発現を評価すること。

(2) mRTKs inhibitor投与による

実験期間中の家兎の除痛効果を検討すること。

軟骨、滑膜、骨棘の肉眼的や組織学的評価をすること。

3. 研究の方法

日本白色家兎の片膝前十字靭帯切離(ACLT)モデルを作製し、術後4週目から7週目までmRTKs inhibitorの経口投与を行い、術後12週で犠牲死した。mRTKs inhibitorの投与量は、投与なしのOA(A)群と0.3mg(B)群、1mg(C)群、3mg/kg/day(C)群の4群に分類した。

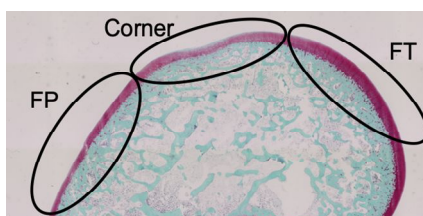
(1)実験期間中の体重を計測し体重増加率を評価した。

(2)

疼痛評価として、incapacitance testerを用いた患肢荷重配分比をACLT術後6, 8, 10, 12週で測定した。

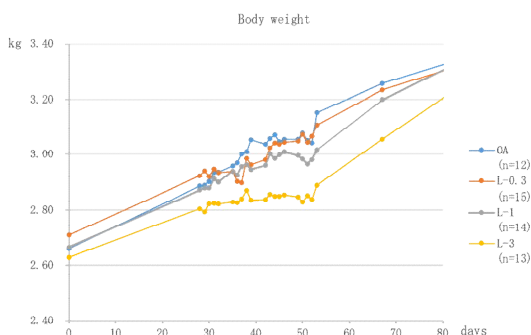
大腿関節面の軟骨組織を大腿脛骨部(FT)、大腿膝蓋骨部(FP)、FTとFPのCornerに分け(図1)、各部位の軟骨変性をOARSI scoreを用いて評価した。滑膜組織はHE染色像を用いてKrennのsynovitis scoreを用いて評価した。大腿骨顆部の骨棘を肉眼的に評価しosteophyte formation scoreで骨棘形成を評価した。また、軟骨組織はMMP3、MMP13、VEGFA、VEGFR-1、ADAMTS5の遺伝子発現量をreal time PCR法を行って評価した。

図1



4. 研究成果

(1) 実験経過中に経口摂取不良や下痢などの消化器症状はなく、mRTKs inhibitor 投与開始時(4w)と実験終了時(12w)の体重増加率を比較したが、投与群と非投与群で有意差なく、(OA 群:1.16±0.05 L-0.3 群:1.14±0.09 L-1 群:1.16±0.07 L-3 群:1.15±0.07)今回の投与量では副作用発現はなかった。



(2)

患肢荷重配分比は術後 12 週時で A 群と比し B 群、C 群で有意に ($p<0.01$) 改善し、D 群では有意差無いものの改善傾向にあり、mRTKs inhibitor 投与による疼痛改善を認めた。(A:38.9±5.2%, B:47.3±3.4%, C:47.4±3.0%, D:42.8±5.2%)

軟骨組織は mRTKs inhibitor 投与群で safranin O の染色性が維持され、OARSI score では A 群と比較し B 群の FT, Corner, FP の全領域で有意な修復を認め、C 群においても Corner で有意な修復を認めた。(FT; A:7.71±3.3, B:2.83±2.0, C:3.44±3.5, D: 5.22±3.7, Corner; A:14.9±4.7, B:7.50±4.0, C:7.81±5.5, D:9.61±4.8, FP; A:8.43±8.2, B:1.56±2.5, C:2.50±2.2, D:3.50±3.6)

滑膜組織は、A 群では滑膜細胞の多層化、細胞密度上昇、好中球浸潤が著明であり、mRTKs inhibitor 投与群では上記の滑膜炎所見は抑制され、synovitis score においても mRTKs inhibitor 投与(B, C, D)群で A 群と比較し有意に炎症は抑制されていた。(A 群:4.3±1.4, B 群:2.6±0.9, C 群: 2.7±1.0, D 群: 2.7±1.1)

骨棘形成に関しては、A 群では大腿骨顆部に大きな骨棘形成を認め、mRTKs inhibitor (B, C, D) 投与群では骨棘形成は抑制され、osteophyte formation score でも mRTKs inhibitor 投与群で有意に骨棘形成は抑制されていた。

軟骨組織の catabolic factor の遺伝子発現は投与群と非投与群で有意差はなかった。現在 anabolic factor の解析をしている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

長井敏洋、佐藤正人、膝 OA に対する VEGF 阻害剤の効果、Bone Joint Nerve、Vol .6、589-594、2016、査読有

〔学会発表〕(計 6 件)

多標的チロシンキナーゼ受容体阻害剤 Lenvatinib による変形性関節症抑制効果

第 33 回日本整形外科学会基礎学術総会、2018

十河泰之 長井敏洋 佐藤正人 高橋匠 滝澤大智 岡田恵理 前原美樹 豊田恵利子

後方進入椎体間固定術の下位腰椎椎間における前弯獲得について：使用ケージの形状による比較検討、第 27 回日本脊椎インストゥルメンテーション学会、2018

長井敏洋 酒井大輔 新井文征 佐藤正人 渡辺雅彦

12° wedge cage・boomerang cage・box cage による後方進入椎体間固定術後の局所前弯角の検討、第 67 回東日本整形災害外科学会、2018

長井敏洋 新井文征 佐藤正人 渡辺雅彦

The effect of cage geometry on segmental lordosis in posterior lumbar interbody fusion: hyper-lordotic box cage versus boomerang cages 45th ISSLS Annual Meeting, 2018

Toshihiro Nagai Daisuke Sakai Yukihiro Yamamoto Masato Sato Masahiko Watanabe

Inhibitory effect of Lenvatinib, a multiple receptor tyrosine kinase inhibitor, on osteoarthritis, Osteoarthritis Research Society International 2018

Yasuyuki Sogo Toshihiro Nagai Takumi Takahashi Daichi Takizawa Masahiko Watanabe Masato Sato

VEGF 受容体チロシンキナーゼ阻害剤 Lenvatinib による滑膜炎抑制効果、第 32 回日本整形外科学会基礎学術総会、2018

十河泰之 長井敏洋 佐藤正人 高橋匠 滝澤大智 岡田恵理 前原美樹 豊田恵利子 渡辺雅彦

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

なし

(2)研究協力者

なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。