

令和 2 年 5 月 28 日現在

機関番号：35303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09991

研究課題名(和文) 炎症性骨破壊におけるアンジオテンシンII受容体の役割の解明

研究課題名(英文) Role of angiotensin II in bone erosion and systemic bone loss in arthritis

研究代表者

守田 吉孝 (Morita, Yoshitaka)

川崎医科大学・医学部・教授

研究者番号：50346441

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：アンジオテンシンIIは骨代謝に対して生理的役割を有していることが近年明らかとなっている。本研究では関節リウマチのモデル動物として知られるヒトTNFトランスジェニックマウスを用い、炎症性骨破壊と骨量に対するアンジオテンシンIIの影響を検討した。関節炎マウスにアンジオテンシンIIを4週間持続投与したところ、関節炎の程度には影響を与えず、組織学的にも炎症細胞浸潤の程度に変化はなかった。しかし、マイクロCT解析にて、関節炎部位の距骨の骨破壊が有意に増強していた。さらに、組織学的にも距骨周囲の破骨細胞数の増加も観察された。一方で、アンジオテンシンIIの投与は脛骨や椎体の骨量に影響を与えなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アンジオテンシンIIは血圧調節因子であり、アンジオテンシンIIの作用を抑制するアンジオテンシン受容体拮抗薬は、降圧薬として広く臨床現場で使用されている。本研究はレニン・アンジオテンシン系の過剰な活性化が、関節リウマチ患者などにみられる炎症性骨破壊のリスク因子となり得ることを示している。関節リウマチにおいては、過剰な炎症性サイトカインを制御してもなお関節破壊が進行していく患者が存在し、骨破壊のメカニズム解明が求められている。本研究の成果はリウマチ治療薬の新規開発に寄与することも期待される動物モデルを用いた基礎的知見である。

研究成果の概要(英文)：Angiotensin II (Ang II) is the main effector peptide of the renin-angiotensin system (RAS), which regulates the cardiovascular system. The RAS is reportedly involved in bone metabolism. The upregulation of RAS components has been shown in arthritic synovial tissues, suggesting the potential involvement of Ang II in arthritis. Accordingly, in the present study, we aimed to investigate the role of Ang II in bone erosion and systemic bone loss in arthritis. Ang II was infused by osmotic pumps in tumor necrosis factor-transgenic (TNF-tg) mice. Ang II infusion did not significantly affect the severity of clinical and histological inflammation, whereas bone erosion in the inflamed joints was significantly augmented. Ang II administration did not affect the bone mass of the tibia or vertebra. Our findings indicate an important implication for the pathogenesis of inflammatory bone destruction and for the clinical use of RAS inhibitors in patients with rheumatoid arthritis.

研究分野：膠原病・アレルギー内科学

キーワード：アンジオテンシンII 関節リウマチ TNF 関節炎 レニン・アンジオテンシン系 骨びらん

1. 研究開始当初の背景

(1) アンジオテンシン II (Ang II)は血圧調節因子として広く知られているが、骨代謝においても生理的役割を有していることが近年注目されている。アンジオテンシン II は骨芽細胞の RANKL 発現を介して破骨細胞分化を亢進させ、一方で骨形成を制御するとされるが、未だ詳細は不明な点が多い。また、リウマチ性疾患など病的骨代謝の病態に及ぼす影響についても明らかでない。

(2) 関節リウマチの病態には、自己免疫性慢性炎症という面と、滑膜細胞の異常増殖と破骨細胞の活性化という面がある。生物学的製剤投与にて、過剰な炎症性サイトカインを制御してもなお関節破壊が進行していく患者が存在し、骨破壊のメカニズム解明が求められている。関節リウマチの関節局所では破骨細胞活性化を介した骨破壊が起こっており、関節滑膜ではレニンや ACE などのレニン・アンジオテンシン系 (RAS) 関連蛋白が増加していることも知られている。しかしながら、RAS が直接的・間接的に骨破壊性病態にどのように関与しているかは不明である。

2. 研究の目的

炎症性あるいは TNF 誘導性の骨破壊と骨量に対する Ang II の影響を検討すること。

3. 研究の方法

(1) Ang II 投与モデル：

12 週齢の野生型(WT)マウス及びヒト TNF トランスジェニック(TNF-tg) マウスに浸透圧ポンプを用いて、Ang II (1.44 mg/kg/日)を 4 週間持続投与した。マウスは経時的に関節炎の状態を評価し、16 週齢で後脚と脊椎(第 5 腰椎)を採取した。

(2) マイクロ CT と組織学的解析：

足関節(距骨)の骨びらん性変化は、マイクロ CT 解析(Ele Scan mini; 日鉄エレクトクス社)にて定量評価し、病理組織学的解析にて炎症細胞の浸潤の程度(H&E 染色)、軟骨破壊(Safranin O 染色)、破骨細胞形成(TRAPS 染色)を評価した。脛骨および腰椎の海綿骨量をマイクロ CT 解析することで、全身骨の骨量評価も行った。

(3) TNF-tg マウスの骨破壊における Ang II タイプ 1 受容体(AT1R)の役割の解明：

内因性の Ang II の役割を検討するため、AT1R 欠損マウスと TNF-tg マウスを交配し、産出された二重変異マウスの骨破壊や骨量を解析した。

4. 研究成果

(1) Ang II の投与は TNF-tg の関節炎自体には影響を与えない：

12 週齢の WT マウスと TNF-tg マウスに Ang II あるいは水(H₂O)を 4 週間持続投与し、16 週齢での体重(図 1A)、関節炎スコア(図 1B)、関節炎発症の足の数(図 1C)を評価したところ、関節炎の肉眼的重症度には差が認められなかった。組織学的解析においても、炎症細胞浸潤(図 1D)や軟骨破壊の程度(図 1E)において、Ang II 投与は影響を与えなかった。

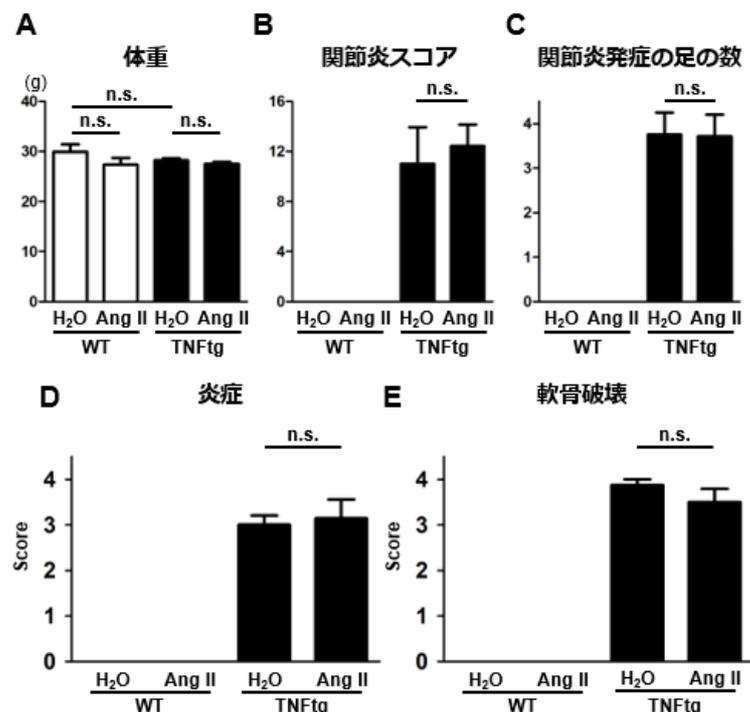


図 1. Ang II 投与が TNF-tg マウスの関節炎に与える影響。
n.s.: 有意な違いなし。

(2) Ang II の投与は TNF-tg の骨びらんを増強させる：

マイクロ CT 解析にて、Ang II を投与された TNF-tg マウスでは、関節炎部位である足関節(距骨)の骨びらんが増強していた(図 2A)。定量的解析では、距骨の骨量、骨量の%減少率、骨びらんの程度(Ev/Rpv)において、Ang II の有意な骨破壊増強効果が見られた(図 2B, 2C, 2D)。組織学的解析では、TNF-tg マウスで認められる TRAP 陽性の破骨細胞は Ang II の投与により増加していた。

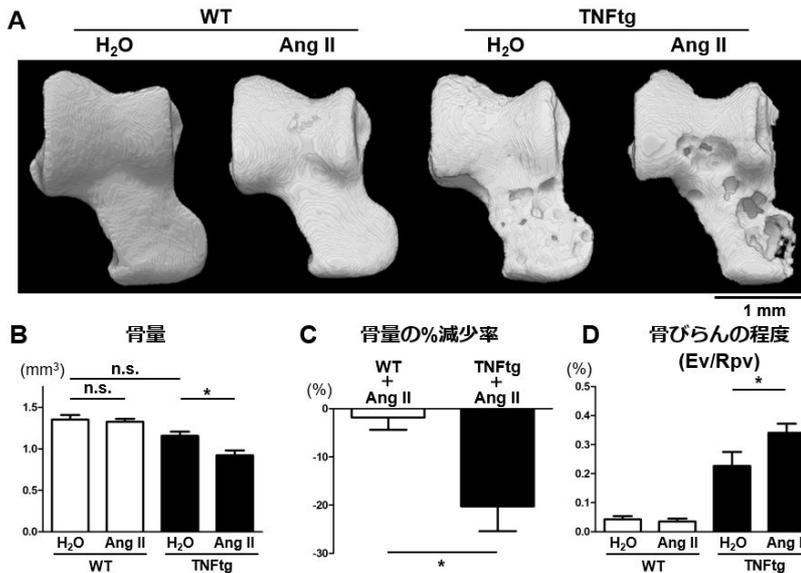


図 2. Ang II 投与が TNF-tg マウスの距骨の骨破壊に与える影響。
n.s.: 有意な違いなし。
*: p<0.05 で有意差あり。

(3) Ang II の投与は TNF-tg マウスの脛骨や椎体の骨量に影響を与えない：

Ang II あるいは水(H₂O)を 4 週間持続投与された 16 週齢の TNF-tg マウスの脛骨と椎体の海綿骨の骨量について、マイクロ CT 解析を行ったが、Ang II はこれらの骨量に影響を与えなかった(図 3)。

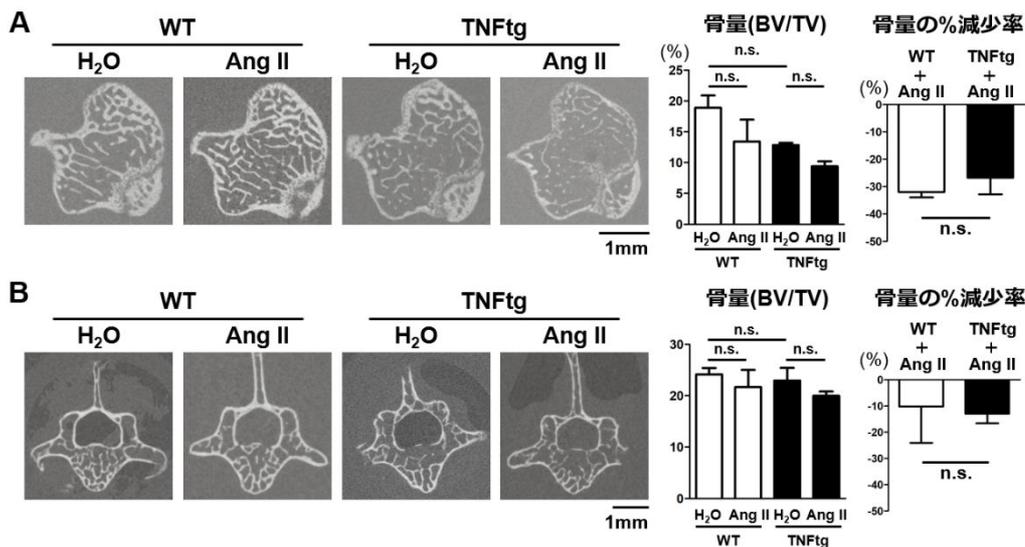


図 3. Ang II 投与が TNF-tg マウスの脛骨(A)と第 5 腰椎(B)の海綿骨の骨量に与える影響。
n.s.: 有意な違いなし。

(4) AT1R が欠損した TNF-tg マウスの骨びらんと骨量の解析：

内因性の Ang II の役割を検討するため、AT1R 欠損マウスと TNF-tg マウスを交配し、関節炎と骨破壊に及ぼす影響を検討した。AT1R の欠損は関節炎の肉眼的重症度に影響を及ぼさなかった。現在、マイクロ CT にて骨破壊や骨量を解析中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 三戸崇史, 向井知之, 藤田俊一, 児玉尚子, 長洲晶子, 守田吉孝
2. 発表標題 Both systemic administration of angiotensin II and its type 1 receptor gene deletion exacerbates erosive bone destruction in hTNF-transgenic arthritis mice
3. 学会等名 第62回日本リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 三戸崇史, 向井知之, 藤田俊一, 河原恭子, 長洲晶子, 児玉尚子, 守田吉孝
2. 発表標題 アンジオテンシンIIはアンジオテンシンIIタイプ2受容体(AT2R)を介して関節炎マウスの骨破壊を増悪させる
3. 学会等名 第36回日本骨代謝学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 三戸崇史, 向井知之, 藤田俊一, 児玉尚子, 長洲晶子, 平野紘康, 守田吉孝
2. 発表標題 Angiotensin II exacerbates bone destruction in human TNF-transgenic arthritis mice
3. 学会等名 第61回日本リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 三戸崇史, 向井知之, 藤田俊一, 児玉尚子, 長洲晶子, 守田吉孝
2. 発表標題 アンジオテンシン IIは関節炎マウスの骨破壊を増悪させる
3. 学会等名 第35回日本骨代謝学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 三戸崇史, 向井知之, 藤田俊一, 児玉尚子, 長洲晶子, 曾根照喜, 守田吉孝
2. 発表標題 Angiotensin II type I receptor deficiency exacerbates erosive bone destruction of hTNF-transgenic arthritis mice
3. 学会等名 The 2017 ACR/ARHP Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2017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	向井 知之 (Mukai Tomoyuki) (00454421)	川崎医科大学・医学部・准教授 (35303)	
研究分担者	佐藤 稔 (Satoh Minoru) (70449891)	川崎医科大学・医学部・准教授 (35303)	