

令和 3 年 6 月 16 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08397

研究課題名(和文) 体軸性脊椎関節炎の骨新生ならびに骨粗鬆症に関する研究

研究課題名(英文) A study of new bone formation and osteoporosis in axial spondyloarthritis

研究代表者

田村 直人 (Tamura, Naoto)

順天堂大学・医学部・教授

研究者番号：20227284

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：体軸性脊椎関節炎(axSpA)は、体軸関節の付着部炎とそれに引き続く骨新生をきたす慢性炎症性疾患で、進行すると重篤な身体機能障害をきたす。axSpAの骨新生を直接的に抑制する分子標的を明らかにするため、IL-22阻害の効果 SpAモデルマウスを用いて検討したが、明らかな抑制効果はみられなかった。axSpAの椎体では骨粗鬆症がよくみられるが、骨粗鬆症治療薬抗RANKL抗体製剤や抗sclerostin抗体製剤の骨新生に対する影響は明らかでない。axSpAマウスにこれらの抗体を投与したが、病理学的な増悪は認められなかった。CT検査や骨代謝マーカーなどの検査を実施して確認を行う。

研究成果の学術的意義や社会的意義

axSpAの骨新生の原因は明らかでなく、これまで骨新生を直接的に抑制する薬剤はない。IL-22は機序的に関与すると考えられているが、本研究ではIL-22阻害薬がaxSpAの骨新生抑制の候補標的分子として適当でない可能性があることが示唆された。また、axSpAで問題となる骨粗鬆症に関して、その治療薬である抗RANKL抗体製剤や抗sclerostin抗体製剤の使用の是非は不明であるが、今後確認が必要であるものの、もし骨新生への影響がないとすれば、これらの薬剤の臨床試験を行ううえで有用な基礎データと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Axial spondyloarthritis (ax-SpA) is a chronic inflammatory disease characterized with enthesitis and subsequent progression of new bone formation of sacroiliac joints and spine, and vertebrae are fused with syndesmophytes causing severe physical dysfunction. Since the etiology and therapeutic target of new bone formation in axSpA is unknown, we examined whether IL-22 inhibition prevented new bone formation in axSpA model mice. However, it did not apparently inhibit the progression. Furthermore, because vertebral osteoporosis is common comorbid in axSpA, we examined the influence of RANKL or sclerostin inhibition on new bone formation in the mice. The worsening of the bone changes in histological analysis. We are conducting CT scan and checking the reproducibility of bone turnover markers.

研究分野：膠原病リウマチ学

キーワード：体軸性脊椎関節炎 骨新生 IL-22 骨粗鬆症 抗RANKL抗体 抗sclerostin抗体

1. 研究開始当初の背景

(1) 体軸性脊椎関節炎 (axial spondyloarthritis: axSpA) は、体軸関節 (仙腸関節および椎間関節) の炎症とそれに引き続く骨新生による靭帯骨棘形成のため不可逆的な関節強直を主病態とする。臨床で使用されている TNF 阻害薬は axSpA の炎症を改善するが、骨新生を直接的に抑制しない。近年、axSpA の骨病変は、初期の炎症から骨破壊の過程においては主に TNF や IL-17 が作用しており、骨新生においては IL-17 および IL-22 が作用している可能性が考えられている。(2) axSpA では骨新生がみられるが椎体骨自体では骨粗鬆症が著しく、骨折リスクが顕著となる。骨粗鬆症治療薬として、ビスホスホネート製剤の他に、抗 RANKL 抗体製剤、抗 sclerostin 抗体製剤が使用されているが、理論的には椎体間の骨新生を助長する可能性がある。

2. 研究の目的

本研究の目的は、axSpA で身体機能障害をきたす骨新生による靭帯骨棘形成が、IL-22 阻害により抑制されるか、また骨粗鬆症治療薬である抗 RANKL 抗体製剤、抗 sclerostin 抗体製剤投与によって骨新生は促進するののかについて、SpA モデルマウスにこれらの抗体を投与して、病理学および血清の各マーカーの解析を行うことである。

3. 研究の方法

24-26 週齢の Balb/c マウスにプロテオグリカン (PG) を完全フロイントアジュバントとともに投与することにより発症する SpA マウスを用いたが、発症率が十分ではなかったため、10 週齢の SKG マウスに curdlan (beta1,3-D グルカン) を腹腔内投与するマウスモデルに変更して検討を行った。抗 RANKL 抗体は 1mg/kg を curdlan (グルカン) 投与 0 週に 1 回、抗 sclerostin 抗体は 5mg/kg を 0 週および 4 週に腹腔内投与した。

(1) 12-14 週で安楽死させ、脊椎病変の組織を H-E、トルイジン・ブルーおよびアリシアン・ブルーにて染色し、病理学的スコアリングを行なった。スコアリングは以下の通りである。スコア 0: 腱附着部炎なし、スコア 1: 腱附着部炎、椎間板周囲の炎症細胞浸潤、線維輪の浸潤 (炎症の grade 1: 軽度、grade 2: 中等度、grade 3: 高度)、スコア 2: 椎間板の 50% 以下の吸収・びらん、スコア 3: 完全な (50% 以上の) 椎間板の吸収、スコア 4: 骨・軟骨強直。

(2) 投与 0, 8, 12 週および安楽死時に採血を行い、サイトカインや骨吸収マーカーなどの測定を行った。

4. 研究成果

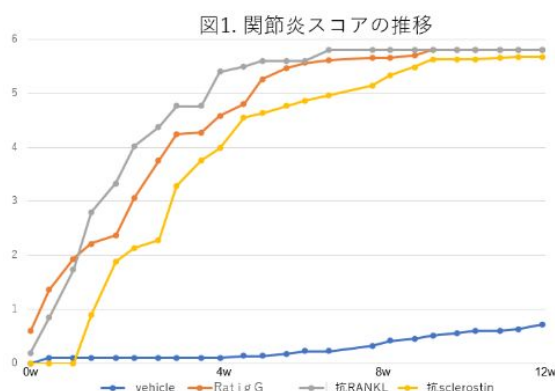
(1) IL-22 阻害効果について

axSpA マウスに抗 IL-22 抗体を投与して、コントロール IgG 投与群との比較を行った。抗 IL-22 抗体の投与は脊椎附着部の炎症、および椎体の変化を検討したが、抗 IL-22 抗体において、これらの変化は IgG 投与群と全く変わりがなかった。このことから、IL-22 は axSpA の骨新生に関与している可能性はあるが、本研究で使用した SpA マウスにおいては病変の阻害効果は認められず、臨床応用に繋がる知見は得られなかった。現在、axSpA の炎症を抑制する分子標的治療薬は存在するが、骨新生を直接的に抑制する薬剤はなく、新たな治療薬が期待されるが、IL-22 阻害については少なくともマウスモデルでは効果がないことから、候補分子としての可能性は低いことが明らかになった。

(2) 抗 RANKL 抗体および抗 sclerostin 抗体投与における骨新生について

各群の関節炎スコアについては図 1. に示す通りであり、抗 sclerostin 抗体投与群で関節炎発症がやや遅い傾向がみられたが、関節炎の程度はいずれも同等であった。また、12 週における病理所見で、抗 RANKL 抗体投与群、および抗 sclerostin 抗体投与群における椎間板周囲の細胞浸潤の程度についても、コントロール IgG 投与群と比較して明らかな差はみられなかった。

さらに、骨変化について、病理学的には椎間板の破壊、骨新生などの変化についてのスコアに大きな差はみられなかった (図 2)。現在、X 線検査ならびに CT 検査を施行予定であり、画像的な検討を追加する予定である。



(3) 抗 RANKL 抗体および抗 sclerostin 抗体投与における炎症性サイトカイン、骨代謝マーカー

の測定について

マウス各群の採血を行い、-80 で保存して、TNF、IL-17、PINP、TRACP-5b の測定を行う

しかし、測定結果にばらつきがみられたため、現在、再度測定を予定している。

axSpA では、骨粗鬆症による骨折のリスクが高いことが知られており、健常人の2倍以上といわれている。また、椎体骨折の場合の脊椎損傷の危険性も高い。従って、抗 RANKL 抗体や抗 sclerostin 抗体を使用することが望ましい場合も少なくないと考えられる。しかし、抗 RANKL 抗体は破骨細胞の抑制し、結果として骨新生が増加する懸念があり、さらに、抗 sclerostin 抗体は、骨新生の抑制因子である sclerostin を直接的に阻害するため、骨新生を増強する可能性がある。よって、実臨床でこれらの治療薬の使用は躊躇されるのが現状である。本研究は、まだ実施中であり最終的な結論ではないが、これまでの実験からは、これらの抗体が骨新生を明確に増強する証拠は得られていない。今後、画像的な検査や骨代謝マーカーの推移が明らかになり、骨新生を増強しないことがより確かになれば、骨粗鬆症を有する axSpA 患者を対象とした抗 RANKL 抗体製剤、あるいは抗 sclerostin 抗体製剤を投与し、安全性と有効性を調査する臨床試験を行う根拠となり得ると考えられる。

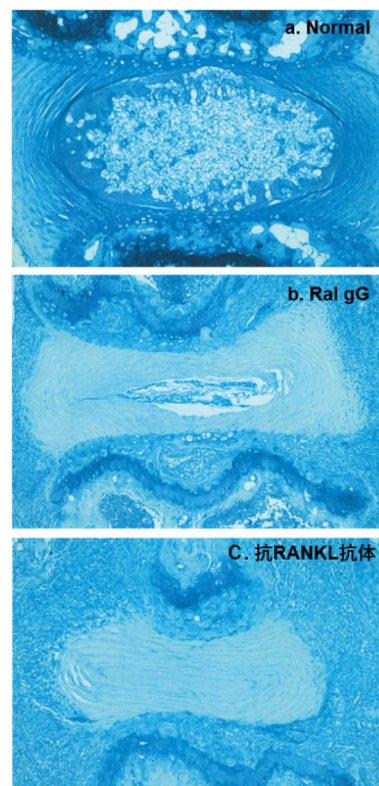


図2. トルシアンブルー染色

引用文献

Kimmel CA, C Trammell. A rapid procedure for routine double staining of cartilage and bone in fetal and adult animals Stain Technol 1981;56:271-3.

Corr M, Weisman MH. Review: Enthesitis: New Insights Into Pathogenesis, Diagnostic Modalities, and Treatment. Arthritis Rheumatol 2016;68:312-22.

田村直人、多田久里守、高崎芳成、他：強直性脊椎炎における骨リモデリングについての検討 . 日本脊椎関節炎学会誌 2011;3:35-41.

D Vosse, R Landewé, D van der Heijde, et al. Ankylosing spondylitis and the risk of fracture: results from a large primary care-based nested case-control study. Ann Rheum Dis 2009;68:1839-42.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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	多田 久里守 (Tada Kurisu) (70424249)	順天堂大学・医学部・准教授 (32620)	

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