

令和 4 年 6 月 9 日現在

機関番号：32651

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K16161

研究課題名(和文)破骨細胞の分化と機能を阻害する低分子化合物の関節リウマチ治療への応用

研究課題名(英文) Application to the rheumatoid arthritis treatment of a small molecule compound inhibiting differentiation and a function of osteoclasts

研究代表者

前田 和洋 (MAEDA, KAZUHIRO)

東京慈恵会医科大学・医学部・講師

研究者番号：50548849

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)：分泌型糖タンパクのWnt5aは、受容体型チロシンキナーゼであるRor2を介し RANKLにより誘導される破骨細胞分化と機能を促進する。関節リウマチ(RA)滑膜にはWnt5aが過剰に発現している。RAによる骨破壊を抑制する目的で、RAモデルに対し、Ror2の下流のキナーゼを阻害する低分子化合物の投与実験を行った。その結果、低分子化合物投与群はコントロールの化合物投与群と比較して有意に骨関節破壊が抑制されることが明らかとなった。本経路が、関節リウマチの骨関節破壊に対する分子標的となる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本経路は炎症性サイトカインやmatrix metalloproteinase(MMP)の産生にも関与するとの報告が散見される。現在、RAの治療は生物学的製剤が用いられているが、そのほとんどは炎症性サイトカインを標的としたものである。骨代謝、炎症性サイトカイン産生およびMMP産生の3つに共通した経路を分子標的とすることは、骨破壊、炎症による痛みおよび軟骨破壊のそれぞれの病態を改善させるのに有用と考える。

研究成果の概要(英文)：The secretory glycoprotein Wnt5a promotes RANKL-induced osteoclast differentiation and function via the receptor-type tyrosine kinase Ror2. Wnt5a is overexpressed in the rheumatoid arthritis (RA) synovium. For the purpose of suppressing bone destruction by RA, we conducted an administration experiment of a low molecular weight compound that inhibits the kinase downstream of Ror2 to the RA model mice. As a result, it was clarified that the low molecular weight compound administration group significantly suppressed the joint destruction as compared with the control compound administration group. It was suggested that this pathway may be a molecular target for suppressing the joint destruction of RA.

研究分野：整形外科学

キーワード：関節リウマチ 炎症性サイトカイン 破骨細胞 骨吸収 Wnt

1. 研究開始当初の背景

超高齢化社会をむかえ、寝たきり高齢者の増加は医療費の増加につながり、国家財政の根本に関わる大きな問題である。高齢者が寝たきりになる原因に骨折や関節炎などの運動器疾患がある。高齢者の骨量を維持し骨折を予防する薬剤の開発は、国家財政の側面のみならず、健康寿命を延伸し豊かな老後を過ごすという観点からも喫緊の課題である。初回骨折後の1年以内の再骨折のリスクは通常の5倍以上になると報告されている。現在、数種類の骨粗鬆症治療薬が臨床で使用されている。しかし、再骨折を防ぐべく、短期間での劇的な骨密度の上昇は実現しにくく、治療にはアンメットニーズが存在する。

骨組織は、生涯作り変えられる。骨形成を担当する骨芽細胞と骨吸収を担当する破骨細胞とのバランスによって骨量は規定される。骨形成に関与する骨芽細胞は、未分化間葉系細胞由来の細胞であり、骨基質タンパク質を産生する。一方、骨吸収を担う破骨細胞はマクロファージ由来の細胞である。骨芽細胞に、骨吸収促進因子が作用すると RANKL が発現する。マクロファージには受容体 RANK が発現しており、骨芽細胞膜上の RANKL を認識し、破骨細胞へと分化する。Wnt は、胎生期の器官形成から発癌に至るまで、組織の改造が盛んな時期に機能するサイトカインである。Wnt シグナルが骨形成を促進することは既に報告されている。しかし、骨吸収における Wnt シグナルの役割は不明な点が多かった。そこで我々は、Wnt シグナルの骨吸収における役割を解析し、以下のことを明らかにしてきた。骨芽細胞の産生する Wnt5a が、破骨細胞前駆細胞の Ror2 受容体を介し、RANK の発現を促進し破骨細胞分化を促進する。成熟破骨細胞において Wnt5a-Ror2 の下流で活性化する Daam2-Rho-Pkn3 経路は、破骨細胞の機能獲得に必要である。さらに、Ror2 受容体の下流のキナーゼを阻害する低分子化合物 X を同定し、閉経後骨粗鬆症モデルマウスに投与したところ、骨形成に影響を与えず骨吸収を抑制し骨密度を増加させた。

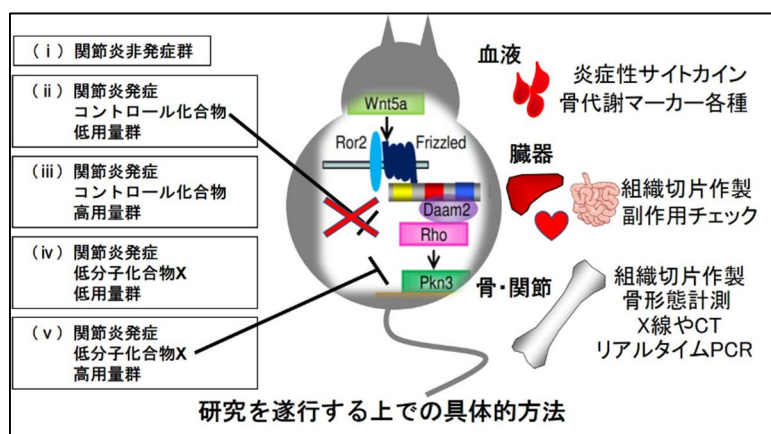
2. 研究の目的

関節リウマチ (RA) は免疫学的異常により骨吸収が亢進し、骨関節破壊を呈する炎症性の自己免疫疾患である。本研究の目的は、低分子化合物 X を RA モデルマウスに投与し、骨関節破壊抑制効果の有無を評価することである。

3. 研究の方法

コラーゲン誘導性関節炎 (CIA) マウスを用い、動物を5群に分け実験を行った。

() 関節炎非発症群、() 関節炎発症群: コントロール低分子化合物低用量投与 (0.5mg/kg)、() 関節炎発症群: コントロール低分子化合物高用量投与 (2mg/kg)、() 関節炎発症群: 治療用低分子化合物 X 低用量投与 (0.5mg/kg)、() 関節炎発症群: 治療用低分子化合物 X 高用量投与 (2mg/kg)。CIA



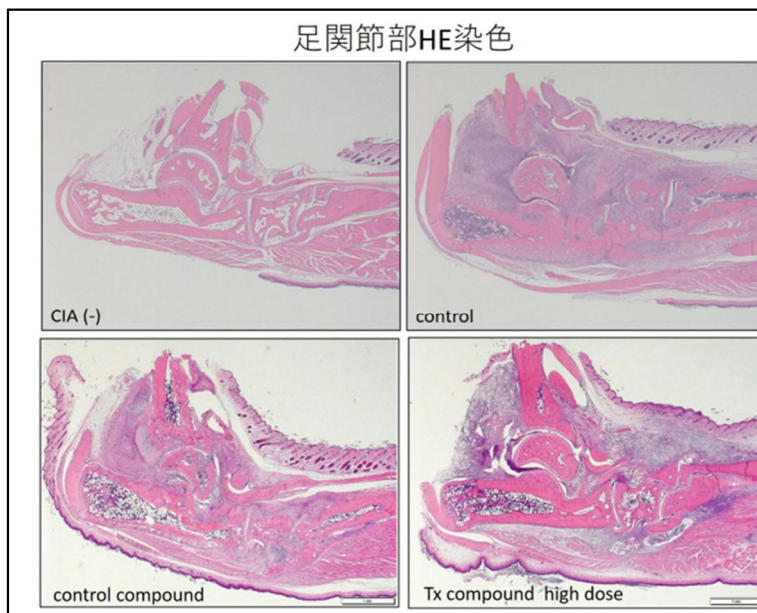
は関節炎の発症率が 60-90%とされているため、各群 n=10 として投与実験を行った。

6週齢のマウスを全身麻酔下にウシ型コラーゲンを尾部の皮下に注射した。3週間後、同一手技で同部位に追加免疫を行った。CIA モデル作製開始直後から、生理食塩水 0.4ml に懸濁したコントロール化合物または低分子化合物 X を毎日 1 回腹腔内注射した。初回免疫直後より、四肢の計測を行い関節炎スコアを評価した。初回免疫から 3 週、5 週で 0.1ml 程度採血を行い、血清を回収し炎症性サイトカインや骨代謝マーカーなどの測定を行った。初回免疫から 7 週後に深麻酔で安楽死させ、血液、臓器、脛骨、大腿骨、足関節、足部を回収する。血液から炎症性サイトカインや骨代謝マーカーを測定、臓器から組織切片を作製し副作用判定を行う。大腿骨や足部は軟 X 線撮影や CT を用いた計測や骨密度測定を行い、脛骨や関節組織から組織切片を作製し、骨形態計測、滑膜炎や骨関節破壊の評価、対側の骨からは RNA 抽出を行いリアルタイム PCR に供した。

4. 研究成果

足部のマイクロ CT を用いた骨びらん評価と足関節部の組織切片を用いた評価で、低分子化合物投与群はコントロールの化合物投与群と比較して有意に骨関節破壊が抑制されることが明らか

となった。本経路が、関節リウマチの骨関節破壊に対する新たな分子標的となる可能性が示唆された。現在、骨から抽出した RNA より cDNA を作製し、リアルタイム PCR を用い骨代謝に關与する遺伝子や炎症性サイトカインや MMP の発現を解析している。同時に回収した血清を用い骨代謝マーカーの解析を行っている。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 6件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Maeda K, Yoshida K, Nishizawa T, Otani K, Yamashita Y, Okabe H, Hadano Y, Kayama T, Kurosaka D, Saito M.	4. 巻 23
2. 論文標題 Inflammation and Bone Metabolism in Rheumatoid Arthritis: Molecular Mechanisms of Joint Destruction and Pharmacological Treatments.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci.	6. 最初と最後の頁 2871
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms23052871.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Wada M, Shimada Y, Iizuka S, Ishii N, Hiraki H, Tachibana T, Maeda K, Saito M, Arakawa S, Ishimoto T, Nakano T, Ida H, Ohashi T, Kobayashi H.	4. 巻 19
2. 論文標題 Ex Vivo Gene Therapy Treats Bone Complications of Mucopolysaccharidosis Type II Mouse Models through Bone Remodeling Reactivation.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mol Ther Methods Clin Dev.	6. 最初と最後の頁 261-274
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.omtm.2020.09.012.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kazuhiro Maeda, Hiroyuki Chino, Tadashi Tokashiki, Jun Udaka, Yuya Okutsu, Mitsuhiro Yukawa, Makoto Mitsuhashi, Naoya Inagaki, Hirofumi Osumi, Yuji Nagamine, Tetsuro Nishizawa, Tomohiro Kayama, Takeshi Fukuda, Kunihiko Fukuda, Hiroya Ojiri, Keishi Marumo	4. 巻 3
2. 論文標題 A case of carpal tunnel syndrome caused by giant gouty tophi: The usefulness of DECT for the diagnosis, preoperative planning, and postoperative evaluation of atypical cases.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Mod Rheumatol Case Rep.	6. 最初と最後の頁 165-171
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/24725625.2019.1596547	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kazuhiro Maeda, Yasuhiro Kobayashi, Masanori Koide, Shunsuke Uehara, Masanori Okamoto, Akihiro Ishihara, Tomohiro Kayama, Mitsuru Saito, Keishi Marumo	4. 巻 20
2. 論文標題 The Regulation of Bone Metabolism and Disorders by Wnt Signaling.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int. J. Mol. Sci.	6. 最初と最後の頁 5525
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20225525.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 前田 和洋、斎藤 充、荒川翔太郎、丸毛 啓史	4. 巻 46
2. 論文標題 健診に必要な骨代謝・骨粗鬆症の知識 骨粗鬆症の基礎知識・問診すべき事項・診察のコツ	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 総合健診	6. 最初と最後の頁 523-527
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 前田 和洋、斎藤 充、荒川翔太郎、丸毛 啓史	4. 巻 46
2. 論文標題 健診に必要な骨代謝・骨粗鬆症の知識 骨粗鬆症の診断・骨評価と骨質評価	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 総合健診	6. 最初と最後の頁 587-592
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Kazuhiro Maeda, Hiroyuki Chino, Tadashi Tokashiki, Jun Udaka, Yuya Okutsu, Mitsuhiro Yukawa, Makoto Mitsuhashi, Naoya Inagaki, Hirofumi Osumi, Yuji Nagamine, Tetsuro Nishizawa, Tomohiro Kayama, Takeshi Fukuda, Kunihiko Fukuda, Hiroya Ojiri, and Keishi Marumo	4. 巻 in press
2. 論文標題 A case of carpal tunnel syndrome caused by giant gouty tophi: The usefulness of DECT for the diagnosis, preoperative planning, and postoperative evaluation of atypical cases.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Modern Rheumatology Case Reports	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/24725625.2019.1596547	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 該当する

1. 著者名 前田 和洋、斎藤 充、丸毛 啓史	4. 巻 84 suppl
2. 論文標題 【腎と透析ベッドサイド検査事典】(第6章)CKD-MBD関連検査 デオキシビリジノリン	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 腎と透析	6. 最初と最後の頁 206-207
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 前田 和洋、 斎藤 充、 丸毛 啓史	4. 巻 31
2. 論文標題 【CKD-MBDガイドラインを再考する-KDIGOガイドライン改訂を受けて】 整形外科医からみたCKD-MBD	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 腎と骨代謝	6. 最初と最後の頁 233-238
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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4件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 前田和洋
2. 発表標題 RANKLの発見と臨床応用の現状 次の一手と今後の課題まで
3. 学会等名 骨粗鬆症治療セミナー (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 前田和洋
2. 発表標題 RANKLの発見が私たちに齎した事と今後の課題 -関節リウマチの適応拡大からステロイド骨粗鬆症の治療まで-
3. 学会等名 2018年板橋・豊島整形外科フォーラム (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 前田和洋
2. 発表標題 手指の発生に関与する分子群による骨代謝制御 -この遠くて近きもの-
3. 学会等名 第62回東京手・肘の外科研究会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 前田和洋、斎藤充、丸毛啓史	4. 発行年 2020年
2. 出版社 メディカルレビュー社	5. 総ページ数 210
3. 書名 『ファーマナビゲーター（抗スクレロスチン抗体編）』 9. 骨折治癒過程に対する抗スクレロスチン抗体の作用	

1. 著者名 前田和洋	4. 発行年 2021年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 1000
3. 書名 『今日の整形外科 治療指針 第8版』 第7章 骨系統疾患、代謝性骨疾患 代謝性骨疾患、その他骨Paget病	

1. 著者名 前田和洋	4. 発行年 2018年
2. 出版社 保育社	5. 総ページ数 241
3. 書名 おとなの病気は、ほくらが予防！未来の健康防衛隊 吉澤謙治 監修	

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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