

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：34602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K09563

研究課題名(和文) 小児大腿骨頭壊死症のIL-6を中心とした分子病態の解明と新規治療法の創出

研究課題名(英文) Molecular pathogenesis and novel therapeutic strategy for osteonecrosis of the femoral head in childhood from the view of interleukin-6

研究代表者

神谷 宣広 (KAMIYA, Nobuhiro)

天理大学・体育学部・教授

研究者番号：50735876

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：小児大腿骨頭壊死症は学童期に発症する難病で大腿骨頭の変形・圧潰により歩行・生活困難となる。病態の発症ならびに進行の機序は不明であり有効な治療法はない。海外の研究機関と共同研究を推進し、本疾患の動物モデルを用いて検討した。4年間の研究成果として、小児大腿骨頭壊死症の治療戦略の1つとしてIL-6中和抗体を用いた方法が強く期待される結果が得られた。今後、この治療戦略を実際の臨床の現場に応用することが望まれる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

股関節の大腿骨頭が小児期に腐る病気(骨壊死)があります。骨頭が潰れる可能性があり小学生の学校活動が盛んな時期に運動や日常生活が大きく制限され、治療に数年かかります。私たちはこの病気に炎症性物質であるインターロイキン6が関係することを世界で初めて報告しました。本研究では、この物質の機能を抑える薬(中和抗体)の効果を病気の動物モデルを用いて調べました。その結果、中和抗体により本疾患の病態を改善できる可能性が明らかになりました。今後は実際の治療に応用するための追加研究が必要と考えています。

研究成果の概要(英文)：Osteonecrosis of the femoral head in childhood is an intractable disease that develops in school-aged children and causes difficulty in walking and living due to the deformity and collapse of the femoral head. The mechanism of pathogenesis and the progression of the disease are unknown, and there is no effective treatment. In collaboration with overseas research institutions, we have investigated the disease in animal models, and as a result of four years of research, we have obtained results showing strong promise for the use of IL-6 neutralizing antibodies as a treatment strategy for pediatric osteonecrosis of the femoral head. It is desired that this therapeutic strategy will be applied to actual clinical practice in the future.

研究分野：小児整形外科・骨代謝

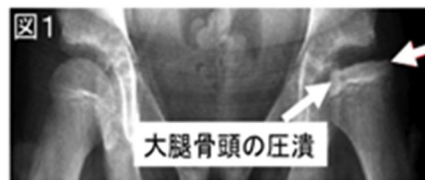
キーワード：骨壊死 小児 インターロイキン6 大腿骨頭 中和抗体 動物モデル

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、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

(1) 病態

小児大腿骨頭壊死症(ペルテス病)は、小児期に発症する難病で大腿骨頭の阻血性壊死をきたす。しかし、詳細な病態は不明である(神谷、小児臨床、2018)。好発年齢は4歳から10歳のあいだであり、臨床的に2つの大きな問題点を有する。治療期間が3~4年と長く就学前から就学後まで学童期の日常活動が大きく制限される。病態として大腿骨頭が変形し潰れる(圧潰する)ため(図1)、股関節痛と変形が生涯続く。



(2) これまでの研究成果

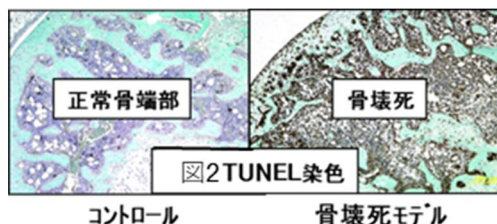
本疾患は治療法のない難病である。病態の解明が遅れている理由として、適切な疾患動物モデルがないこと、患者検体を集約的に解析することが難しいことが挙げられる。申請者は本疾患研究を世界的に牽引している海外研究機関と協力し、科研費を活用して、疾患動物モデルの樹立(Kamiya CORR 2015)ならびに患者検体の集約的解析(Kamiya JBMR 2015)を実現した。その結果、本疾患の原因は、壊死周囲の関節軟骨から発現されるIL-6が骨代謝に悪影響し骨圧潰を引き起こす基礎的結果を得た。

2. 研究の目的

本研究課題では「小児大腿骨頭壊死症の分子病態にIL-6が大きく関与しているか」を問い、動物モデルを用いて基礎的結果をさらに発展させ、新規治療法への橋渡し研究を行う。研究目的は、小児大腿骨頭壊死症の治療標的がIL-6であることを実験動物で検証することである。

3. 研究の方法

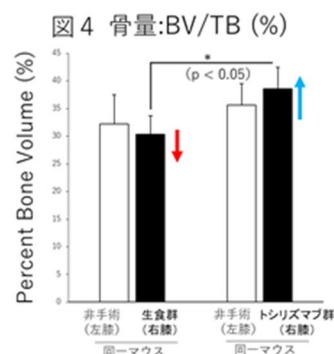
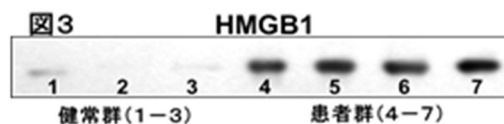
骨壊死組織では骨細胞は死滅する。しかし、壊死組織周囲の関節軟骨は虚血・低酸素環境において生き抜くことができる。壊死組織から放出された炎症性起因为物質(DAMPs)や白血球(特に好中球やマクロファージ)が軟骨細胞に働きかけIL-6が分泌される。IL-6の骨代謝への働きとして、骨形成を抑制し骨吸収を促進する作用がある。IL-6を中心とした基礎的な疾患メカニズム研究と臨床応用への橋渡し研究の両研究を並行して進める。治療戦略として、IL-6受容体を中和抗体で遮断することでIL-6の機能を抑制する。その結果、骨壊死病態が改善することを検証した。なお、抗IL-6受容体中和抗体(薬品名:トシリズマブ)は日本の製薬企業から開発され、現在、関節リウマチの治療薬として世界的に使用され副作用も少ない。また、本疾患の動物モデルとして、マウスモデルならびにブタモデルを使用した。マウスモデルでは、大腿骨骨端部へ血流を供給している血管を外科的に選択的に遮断することにより100%の確率で骨壊死病理像(TUNEL染色陽性像)を再現する(Kamiya, CORR 2015)(図2)。また、過去に収集した本疾患患者の関節液についても解析を行った。



4. 研究成果

(1) 本疾患患者の関節液解析

IL-6に関連する炎症誘発性物質の検討を行った。本疾患患者の関節液にIL-6を誘発することが知られているHMGB1が多く存在することが明らかになった(図3, JBMR Plus 2021)。この結果は、骨壊死部には死細胞から放出される炎症起因为物質(DAMPs)の一つであるHMGB1が多く存在し、その影響を受けてIL-6が多量に分泌される仮説を支持するものであった。マクロファージやHMGB1が壊死部から周囲の関節軟骨に働きかけて軟骨細胞からのIL-6分泌に寄与していることが予想された。



(2) 骨壊死マウスモデルへのトシリズマブ投与

生理食塩水を投与した比較対照群では骨壊死誘導後に骨量が減少した。一方、トシリズマブを週に一度6週間投与した結果、トシリズマブを投与した群では壊死後の骨修復が促進され、骨量が有意に増加した(図4, Osteoarthritis and Cartilage

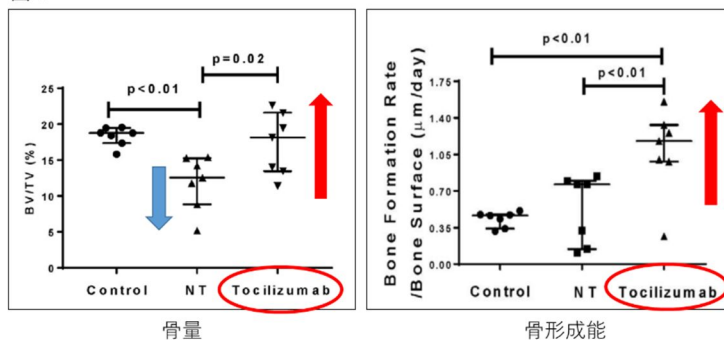
2019)。

この結果は、IL-6 レセプターに対する中和抗体の投与により IL-6 シグナルが遮断され、その結果、IL-6 シグナルに誘導される一連の炎症反応が抑制されたことが予想される。IL-6 シグナルは、骨代謝において、骨形成を抑制し、骨吸収を促進する作用があることが知られている。IL-6 シグナルが抑制された結果、壊死部の骨量が減少せず、むしろ僅かであるが増加したことが示された。

(3) 骨壊死モデルへのトシリズマブ投与

骨壊死モデルにおいても同様にトシリズマブの全身投与を行った。その結果、トシリズマブ群は比較対照群に比べて優位に骨量が増加し、また、骨形成能も亢進していた(図5、Journal of Bone and Mineral Research 2021)。また、骨吸収能は有意に抑制された。これらの結果は、IL-6 シグナルの遮断によって骨壊死部の骨形成能が亢進し、骨吸収能が逆に抑制され、結果的に壊死部の骨新生を促進することを示唆した。

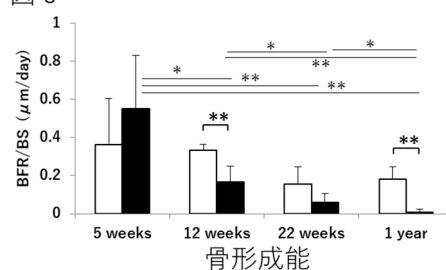
図5



(4) 壮年期の骨壊死マウスモデルの作製

小児大腿骨頭壊死症では、年齢が上がるにつれて治療成績が悪くなることが知られている。このことは、年齢が上がることにより骨再生能力が低下することが背景にあると考えられる。IL-6 シグナルを遮断することで年齢が上がった骨壊死モデルにおいてもトシリズマブが効果を示すか検証することは非常に有意義である。その前段階として、壮年期骨壊死マウスモデルの骨再生能が幼若期骨壊死マウスモデルより低下しているか検証した。その結果、年齢が上がるにつれて骨壊死誘導後の骨再生能(骨代謝)は低下する結果が得られた(図6、Journal of Orthopaedic Research 2021)。

図6

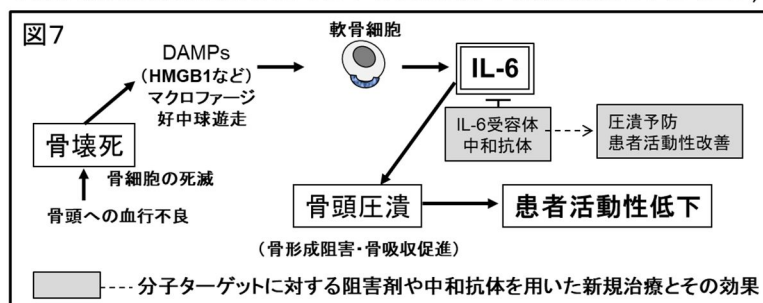


今後は、壮年期発症の骨壊死に対してもトシリズマブが効果を示すか検討する予定である。

5. 研究仮説

以上、得られた結果から IL-6 を中心とした小児大腿骨頭壊死症の病態モデルを提唱する(図7)。IL-6 の機能を抑えることが、壊死部の骨圧潰を予防し、骨頭変形を抑制することで患者の活動性が改善することが考えられた。

小児大腿骨頭壊死症のIL-6を中心とした分子病態仮説モデル(図7)



1. Kamiya N, Kim HK. Elevation of proinflammatory cytokine HMGB1 in the synovial fluid of patients with Legg-Calvé-Perthes disease and correlation with IL-6, JBMR Plus, 5(2):e10429, 2021. PMID: 33615102

2. **Kamiya N**, Kuroyanagi G, Aruwajoye O, Kim HKW. IL6 Receptor blockade preserves articular cartilage and increases bone volume following ischemic osteonecrosis in immature mice, Osteoarthritis Cartilage, 27(2):326-335, 2019. PMID: 30404032
3. Ren Y, Deng Z, Gokani V, Kutschke M, Mitchell TW, Aruwajoye O, Adapala NS, **Kamiya N**, Abu-Amer Y, Kim HK. Anti-Interleukin-6 therapy decreases hip synovitis and bone resorption and increases bone formation following ischemic osteonecrosis of the femoral head, J Bone Miner Res, 36(2):357-368, 2021. PMID: 33053220
4. Yamaguchi R, **Kamiya N**, Kuroyanagi G, Ren Y, Kim HKW. Development of a murine model of ischemic osteonecrosis to study the effects of aging on bone repair, J Orthop Res, Feb 12, 2021. PMID: 33580535

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件 / うち国際共著 3件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kato Daisaku, Matsushita Masaki, Takegami Yasuhiko, Mishima Kenichi, Kamiya Nobuhiro, Osawa Yusuke, Imagama Shiro, Kitoh Hiroshi	4. 巻 111
2. 論文標題 Gain-of-Function of FGFR3 Accelerates Bone Repair Following Ischemic Osteonecrosis in Juvenile Mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Calcified Tissue International	6. 最初と最後の頁 622 ~ 633
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00223-022-01019-2	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 Yamaguchi Ryosuke, Kamiya Nobuhiro, Kuroyanagi Gen, Ren Yinshi, Kim Harry K. W.	4. 巻 39
2. 論文標題 Development of a murine model of ischemic osteonecrosis to study the effects of aging on bone repair	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Orthopaedic Research	6. 最初と最後の頁 2663 ~ 2670
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jor.25006	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 Ren Yinshi, Deng Zhuo, Gokani Vishal, Kutschke Michael, Mitchell Thomas Wesley, Aruwajoye Olumide, Adapala Naga Suresh, Kamiya Nobuhiro, Abu Amer Yousef, Kim Harry KW	4. 巻 36
2. 論文標題 Anti Interleukin <sc>6</sc> Therapy Decreases Hip Synovitis and Bone Resorption and Increases Bone Formation Following Ischemic Osteonecrosis of the Femoral Head	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Bone and Mineral Research	6. 最初と最後の頁 357 ~ 368
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jbmr.4191	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 Kamiya Nobuhiro, Kim Harry KW	4. 巻 5
2. 論文標題 Elevation of proinflammatory cytokine HMGB1 in the synovial fluid of patients with Legg-Calve-Perthes Disease and correlation with IL-6	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 JBMR Plus	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jbm4.10429	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 該当する

1. 著者名 Kaniya N., Kuroyanagi G., Aruwajoye O., Kim H.K.W.	4. 巻 27
2. 論文標題 IL6 receptor blockade preserves articular cartilage and increases bone volume following ischemic osteonecrosis in immature mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Osteoarthritis and Cartilage	6. 最初と最後の頁 326 ~ 335
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.joca.2018.10.010	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 該当する

〔学会発表〕 計6件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 神谷宣広
2. 発表標題 A new therapeutic strategy for Legg-Calve-Perthes disease (LCPD) using a monoclonal neutralizing antibody for interleukin 6 (IL-6) receptor by stimulating new bone formation and revascularization
3. 学会等名 13th Combined Meeting of Asia Pacific Spine Society & Asia Pacific Paediatric Orthopaedic Society (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 神谷宣広
2. 発表標題 Perthes病に対する抗 IL-6受容体中和抗体を用いた新規治療戦略：骨壊死後の骨組織修復を促進する
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 神谷宣広
2. 発表標題 ペルテス病のIL-6を中心とした分子病態の解明と新規治療法の創出
3. 学会等名 第32回日本小児整形外科学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 神谷宣広
2. 発表標題 ベルテス病-疾患の基礎知識と最新の治療法-
3. 学会等名 第47回日本股関節学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 神谷宣広
2. 発表標題 ベルテス病に対するインターロイキン6を標的とした骨免疫からの新規治療戦略
3. 学会等名 第37回日本骨代謝学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 神谷宣広
2. 発表標題 小児整形外科の基礎研究
3. 学会等名 第34回日本整形外科学会基礎学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019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	黒柳 元 (Kuroyanagi Gen) (80790831)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・講師 (23903)	

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			
米国	Texas Scottish Rite Hospital			