

令和 4 年 5 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2020～2021

課題番号：20K21515

研究課題名(和文) 関節リウマチの骨破壊の病態解明と画期的な治療法の開発

研究課題名(英文) Elucidation of bone destruction in rheumatoid arthritis and development of novel therapies

研究代表者

小松 紀子(Komatsu, Noriko)

東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・助教

研究者番号：20553358

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：関節リウマチでは関節破壊だけでなく、炎症関節の近傍や全身性に骨粗鬆症がおきるが、そのメカニズムは不明な点が多い。本研究では関節リウマチのマウスモデルを利用し、炎症関節近傍の骨の骨髓に存在する形質細胞が増加し破骨細胞誘導因子RANKLを発現して傍関節性骨粗鬆症をひき起こすこと、炎症関節では滑膜線維芽細胞が主要なRANKL発現細胞として関節破壊を引き起こすことを明らかにした。本研究により関節リウマチの骨破壊の機序の解明と治療法の開発に繋がる知見を得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

関節リウマチでは関節破壊以外にも関節近傍や全身性に骨粗鬆症が起きる。骨粗鬆症は関節リウマチ患者の骨折リスクを上げ、生活の質を下げるが、これまでの治療法では関節破壊の進行を抑制できても骨粗鬆症は十分に抑制できないという問題があった。本研究においてマウスモデルを使用して明らかとなった傍関節性骨粗鬆症や関節破壊のメカニズムは関節リウマチの骨破壊の治療法の開発に貢献すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：In rheumatoid arthritis, not only joint erosion but also periarticular bone loss and systemic osteoporosis are observed, while the mechanism of periarticular bone loss and systemic osteoporosis remains largely unknown. In this study, we found that the number of bone marrow plasma cells increases under arthritic conditions and they induce periarticular bone loss by expressing the osteoclast differentiation factor, RANKL. In addition, we clarified that synovial fibroblasts are major RANKL expressing cells which induce joint erosion. This study highlights the importance of plasma-cell RANKL in periarticular bone loss in arthritis and provides mechanistic insight into the manifestation of bone lesion induced by autoimmunity.

研究分野：免疫学

キーワード：関節リウマチ

1. 研究開始当初の背景

関節リウマチは炎症に伴って骨破壊が誘導される最も頻度の高い自己免疫疾患の一つである。関節リウマチの骨破壊には、関節破壊(骨びらん) 関節近傍の骨粗鬆症(傍関節性骨粗鬆症) 全身性骨粗鬆症の3種類がある。破骨細胞は破骨細胞誘導因子 RANKL によって分化誘導され関節リウマチの3つすべてのタイプの骨破壊を引き起こす原因細胞である。したがって、それぞれの骨破壊において RANKL 発現細胞を同定することは、関節リウマチの骨破壊のメカニズムと治療法の開発に重要な知見をもたらすと考えられる。関節リウマチでは、自己抗原の提示を受け活性化した T 細胞が B 細胞から形質細胞への分化を誘導して自己抗体が産生される。骨粗鬆症は、関節リウマチ患者の骨折リスクを上げ、生活の質を下げるが、これまでの治療法では関節破壊の進行を抑制できても骨粗鬆症は十分に抑制できず、新しい治療法の確立が望まれている。自己抗体のひとつである抗シトルリン化ペプチド抗体は関節リウマチの診断マーカーであるが、関節リウマチの発症に先行し、抗シトルリン化ペプチド抗体の産生や傍関節性骨粗鬆症がみられることが知られている。しかしながら傍関節性骨粗鬆症のメカニズムは不明な点が多く、骨破壊を誘導する RANKL 発現細胞も同定されていなかった。

2. 研究の目的

傍関節性骨粗鬆症を誘導する破骨細胞誘導因子 RANKL 発現細胞の同定を行い、傍関節性骨粗鬆症における病理学的意義を明らかにする。

3. 研究の方法

RANKL を発現した細胞が蛍光標識される RANKL レポーターマウスを新たに作成し、関節炎を誘導して RANKL 発現細胞を同定する。次に同定した細胞と破骨細胞前駆細胞を共培養することで破骨細胞分化誘導能を検討する。さらに種々の細胞種特異的 RANKL 欠損マウスを作製し、自己免疫性関節炎を誘導したうえで傍関節性骨粗鬆症の評価を行い、同定した細胞における RANKL 発現の傍関節性骨粗鬆症における病理学的意義を明らかにする。

4. 研究成果

RANKL を発現した細胞が蛍光標識される RANKL レポーターマウスを新たに作成し、関節リウマチのマウスモデルとして汎用されるコラーゲン誘導性関節炎を誘導した。その結果、骨髄中では形質細胞で、炎症関節の滑膜では滑膜線維芽細胞に高い RANKL 発現がみられることがわかった。形質細胞による破骨細胞誘導能を検討するため破骨細胞の前駆細胞と共培養すると、試験管内で形質細胞は破骨細胞誘導能をもつこと、RANKL の発現を欠損した形質細胞は破骨細胞を誘導できないことから、形質細胞は RANKL を発現することで破骨細胞を分化誘導できることが明らかとなった。

次に炎症関節近傍の骨の骨量と骨髄中の形質細胞の細胞数の関連を経時的に検討したところ、関節炎の炎症が起きる前から関節近傍の骨の骨量が減少する一方で骨の骨髄中の形質細胞の細胞数が増えていることがわかった。炎症関節から離れた脊椎では関節炎が進行してから骨量減少が認められ形質細胞の増加も認められなかった。このことは形質細胞が関節炎の発症に先立って関節近傍の骨で増え骨粗鬆症を誘導することを示唆する。

さらに形質細胞が発現する RANKL の傍関節性骨粗鬆症における役割を生体レベルで検討するため、RANKL を B 細胞系列特異的に欠損するマウスをコラーゲン誘導性関節炎感受性の DBA1/J の系統にて作製し、関節炎を誘導した。興味深いことに B 細胞系列で RANKL を欠損したマウスでは関節炎を誘導しても破骨細胞の数が増加せず、野生型マウスと比較して関節近傍の骨の骨量減少が小さいことが分かった。完全に骨量減少が防げなかったことから関節近傍の骨の骨量減少には骨形成の抑制などの寄与が想定される。一方で、B 細胞系列で RANKL が欠損したマウスでは全身性骨粗鬆症の指標である脊椎の骨量減少は抑制されなかった。これらのことから、B 細胞系列の RANKL は傍関節性骨粗鬆症に重要であり、全身性骨粗鬆症には関与しないことが示された。

関節リウマチの関節では、炎症を起こした滑膜に集積する細胞が RANKL 発現をして破骨細胞を誘導し、関節破壊が起こると考えられている。以前私たちは関節特異的に存在する間葉系細胞である滑膜線維芽細胞が T 細胞よりも強力に関節破壊を引き起こすことを生体

レベルで証明してきた。B 細胞も RANKL を発現するという報告もあったため、関節破壊を誘導する主要な RANKL 発現細胞を決定するため RANKL を滑膜線維芽細胞、T 細胞、B 細胞系列特異的に欠損するマウスを DBA1/J の系統にて作製し関節炎を誘導した。その結果、関節では滑膜線維芽細胞に RANKL を欠損させたマウスでのみ関節破壊の抑制が認められた。したがって関節破壊では滑膜線維芽細胞が主要な RANKL 発現細胞であることが生体レベルで明らかとなった。

以上の研究結果より、関節近傍の骨では骨髄中の形質細胞の細胞数が増加して RANKL を介して破骨細胞を誘導し、傍関節性骨粗鬆症を引き起こすことが明らかとなった。また滑膜線維芽細胞が産生する RANKL が関節破壊に重要であることが実証された(Komatsu et al Journal of Clinical Investigation, 2021)。

今後の展望

本研究では形質細胞が RANKL を介して傍関節性骨粗鬆症を誘導することを明らかにした。形質細胞は骨髄中に存在し、炎症時に大量に産生される抗体や炎症性サイトカインは炎症や骨破壊に働くことが知られている。本研究から形質細胞が関節リウマチの発症に先立って関節近傍の骨の骨髄に集積し、RANKL、抗体、炎症性サイトカインをいう 3 つの武器を駆使することで傍関節性骨粗鬆症を引き起こすことが考えられる。傍関節性骨粗鬆症は関節リウマチの臨床所見に先立つことから、関節近傍の骨の骨髄が‘所属骨髄’として機能し関節病変の制御を担う可能性を示唆する。本研究は関節リウマチの発症を誘発する機構の解明につながる知見を提供し、形質細胞を標的とした傍関節性骨粗鬆症の治療法を提唱するものとして意義があると考えられる。さらに、本研究により関節破壊における滑膜線維芽細胞の重要性を生体レベルで実証することに成功した。近年、シングルセル解析を通して滑膜線維芽細胞はさまざまな異なる機能を有する亜集団から構成されることが報告されている。今後は RANKL を発現する骨破壊誘導性の滑膜線維芽細胞の分化機構の解明やこれを標的とした関節破壊の治療法のさらなる開発が期待される。以上により本研究成果は今後の関節リウマチの骨破壊のメカニズムの解明や治療法の開発に大きく貢献すると考えられる。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Komatsu N, Win S, Yan M, Huynh CN N, Sawa S, Tsukasaki M, Terashima A, Pluemsakunthai W, Kollias G, Nakashima T and Takayanagi H	4. 巻 131
2. 論文標題 Plasma cells promote osteoclastogenesis and periarticular bone loss in autoimmune arthritis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Clin Invest.	6. 最初と最後の頁 1,8
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1172/JCI143060.	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 Tsukasaki M, Huynh NC, Okamoto K, Muro R, Terashima A, Kurikawa Y, Komatsu N, Pluemsakunthai W, Nitta T, Abe T, Kiyonari H, Okamura T, Sakai M, Matsukawa T, Matsumoto M, Kobayashi Y, Penninger JM, Takayanagi H	4. 巻 2
2. 論文標題 tepwise cell fate decision pathways during osteoclastogenesis at single-cell resolution.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nat Metab	6. 最初と最後の頁 1382,1390
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42255-020-00318-y.	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 Tsukasaki M, Asano T, Muro R, Huynh NC, Komatsu N, Okamoto K, Nakano K, Okamura T, Nitta T, Takayanagi H	4. 巻 32
2. 論文標題 OPG Production Matters Where It Happened.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Rep	6. 最初と最後の頁 1,10
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.celrep.2020.108124.	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 Takahashi D, Hoshina N, Kabumoto Y, Maeda Y, Suzuki A, Tanabe H, Isobe J, Yamada T, Muroi K, Yanagisawa Y, Nakamura A, Fujimura Y, Saeki A, Ueda M, Matsumoto R, Asaoka H, Clarke JM, Harada Y, Umemoto E, Komatsu N, Okada T, Takayanagi H, Takeda K, Tomura M, Hase K	4. 巻 58
2. 論文標題 Microbiota-derived butyrate limits the autoimmune response by promoting the differentiation of follicular regulatory T cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 EBioMedicine.	6. 最初と最後の頁 1,18
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ebiom.2020.102913.	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 -

〔学会発表〕 計12件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 小松紀子、高柳広
2. 発表標題 自己免疫性関節炎における細胞特異的RANKL発現の病理的意義
3. 学会等名 日本リウマチ学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小松紀子 高柳広
2. 発表標題 自己免疫性関節炎の骨破壊における破骨細胞誘導細胞の同定
3. 学会等名 日本リウマチ学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小松紀子 高柳広
2. 発表標題 自己免疫性関節炎の骨破壊における破骨細胞誘導細胞の同定
3. 学会等名 日本炎症再生・医学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小松紀子
2. 発表標題 炎症による骨代謝制御機構の解明
3. 学会等名 日本骨代謝学会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小松紀子
2. 発表標題 Plasma cells promote osteoclastogenesis and periarticular bone loss in autoimmune arthritis
3. 学会等名 日本免疫学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小松紀子
2. 発表標題 形質細胞が自己免疫性関節炎の傍関節性骨粗鬆症を誘導する
3. 学会等名 ベーシックリサーチカンファレンス
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Noriko Komatsu
2. 発表標題 Identification of osteoclast inducer cells in bone destruction in autoimmune arthritis
3. 学会等名 Japan Bone Academy 2021 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Minglu Yan, Noriko Komatsu, Ryunosuke Muro, Hiroyuki Takaba, Takeshi Nitta, Kazuo Okamoto, Masayuki Tsukasaki, Hiroshi Takayanagi
2. 発表標題 A distal enhancer regulates RANKL expression in synovial fibroblasts in 自己免疫性関節炎の 傍関節性骨粗鬆症の誘導機構
3. 学会等名 日本免疫学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小松紀子 Yan Minglu 塚崎雅之 高柳広
2. 発表標題 自己免疫性関節炎の傍関節性骨粗鬆症の誘導機構
3. 学会等名 日本骨免疫学会 ウィンタースクール
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小松紀子 高柳広
2. 発表標題 自己免疫性関節炎における破骨細胞誘導細胞の同定
3. 学会等名 日本薬学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小松紀子
2. 発表標題 自己免疫性関節炎における骨破壊誘導細胞の同定
3. 学会等名 北海道大学 免疫代謝内科学セミナー（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小松紀子
2. 発表標題 形質細胞による骨破壊誘導機構
3. 学会等名 東京免疫フォーラム（招待講演）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 小松紀子	4. 発行年 2020年
2. 出版社 北隆館	5. 総ページ数 5
3. 書名 Bio Clinica	

1. 著者名 Komatsu Noriko, and Takayanagi Hiroshi	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Academic press	5. 総ページ数 8
3. 書名 Encyclopedia of Bone Biology	

〔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
---------	---------