

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 26 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24791542

研究課題名(和文) 脂肪細胞分泌因子アディポネクチン制御による新規関節リウマチ治療法の確立

研究課題名(英文) Development of novel treatment of rheumatoid arthritis by regulation of adiponectin

研究代表者

蛸名 耕介 (Ebina, Kosuke)

大阪大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：70612076

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：関節リウマチ(RA)患者の300名の血清を採取し、データベースを作製した。我々は過去にRA重症度と血中アディポネクチン(APN)が高い相関を示し、血中でAPNと補体C1q(APNと高い相同性)が結合していることを報告している。RA患者と健常者の血中APN、C1q、APN-C1q複合体濃度を測定し、RA疾患活動性や重症度との相関検証を行った結果、血中APN-C1q複合体濃度は健常者と比較してRA患者で有意に高値であり、かつAPNやC1q濃度単独よりも関節破壊重症度と強い相関を示すことが明らかとなり、有用な新規RA重症化予測マーカーや治療ターゲットとなる可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：We established 300 RA patients clinical database including severity and extent of joint destruction. We have previously reported that severity of RA evaluated by the extent of joint destruction is associated with serum adiponectin (APN) levels. In addition, APN and complement C1q forms complex (APN-C1q) in human serum and associate with the risk of cardiovascular events of type2 diabetes. From our results, serum APN-C1q levels of RA patients were significantly higher than that of age-and-BMI matched controls, and also showed stronger correlation with severity and extent of joint destruction compared to serum APN and C1q levels, respectively. Monitoring serum APN-C1q levels may be a novel predictive factor and of RA joint destruction and its clinical application as treatment target is expected.

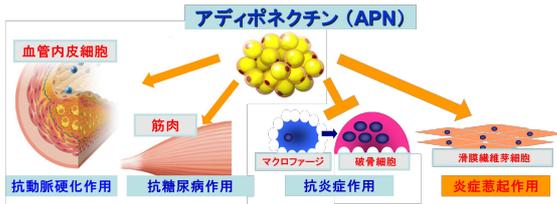
研究分野：外科系臨床学

科研費の分科・細目：整形外科学

キーワード：アディポネクチン 関節リウマチ

1. 研究開始当初の背景

脂肪細胞は様々なアディポサイトカインと呼ばれるホルモンを産生し、糖尿病・高血圧・動脈硬化症などの糖脂質代謝性疾患に加え、骨代謝疾患・炎症性疾患などの病態にも密接に関与することが明らかとなってきている。



我々は代表的なアディポサイトカインの1つであるアディポネクチン (APN) をアデノウイルスを用いて肝臓で過剰発現し、血中濃度を上昇させるとマウスの骨量が増加することを過去に論文報告した。また、関節リウマチ患者 (Rheumatoid Arthritis:以下 RA) において健常者より血中 APN 濃度が有意に高値であり、かつ関節破壊に伴う重症度と有意に相関することも過去に論文報告した。血中 APN 濃度は既存の関節炎の重症度マーカーである炎症性マーカーと全く相関を示さないことより、炎症を介さない新規の関節破壊のマーカーとなる可能性が示唆された。そこで我々は関節炎モデルマウスにアデノウイルスを用いて APN を肝臓で過剰発現させ、血中濃度を上昇させると予測に反して関節炎の発症や重症度が抑制されることを発見し、論文報告した。これには APN の有する抗炎症・血管透過性抑制・接着分子発現抑制・破骨細胞分化抑制効果などが主に関与していると考えられた。元来 APN は蛋白の異化亢進を抑制し、エネルギー消費を抑制する作用があると報告されている。RA における血中 APN 濃度の上昇は、関節破壊に伴う異化亢進状態を生体が何らかの機序により感知し抑制するネガティブフィードバック機構である可能性が考えられる。一方、APN は補体 C1q と高い相同性を示し結合することで補体経路を活性化することや、血中の APN-C1q 複合体濃度が心血管イベントのリスクと相関することも報告されている。



2. 研究の目的

現在までに RA における関節破壊予測因子としてはリウマチ因子 (RF) や抗 CCP 抗体などが臨床応用されているが、完全とは言い難い。血中 APN や APN-C1q 複合体濃度が新しい RA 重症化や心血管イベントの予後・治療効果反応予測因子となり得るかを検討する。

3. 研究の方法

大阪大学医学部附属病院および大阪大学整形外科関連病院に通院加療中の RA 患者約 300 名・非関節炎患者約 100 名の血清を採取し、破壊関節・重症度や炎症性マーカー (CRP・MMP-3 等)・糖脂質代謝マーカー (LDL/HDL-Chol・HbA1c 等) 等を含めたデータベースを作製した。RA 重症度は過去の報告にならない全身の破壊関節数に基づいた越智の分類を使用し、最終的に年齢と BMI を一致させた非関節炎患者 89 名、軽症 RA 患者 103 名、重症 RA 患者 45 名で横断的調査を行った。

RA 重症度分類 (越智の分類)

単純レントゲンにより、全身68関節のうちSteinbrocker分類でⅡ度以上の

変化を認めた関節を破壊関節とした

破壊関節数 < 20 : least erosive subset (LES) → **軽症RA (n=103)**

破壊関節数 20-50 : more erosive subset (MES) → **重症RA (n=45)**

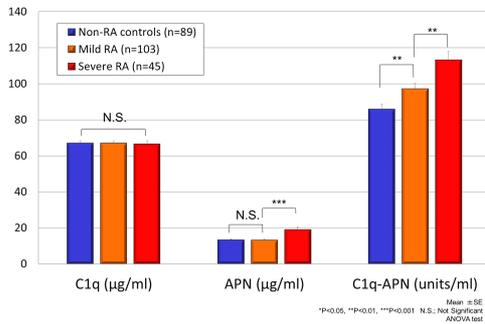
破壊関節数 > 50 : most erosive subset (MUD)

Ochi T et al. Arthritis Rheum. 1988

4. 研究成果

RA 患者と健常者の血中 APN、C1q、APN-C1q 複合体濃度を測定し、RA 疾患活動性や重症度、脂質代謝マーカーとの相関検証を行った。その結果、重症 RA 群では軽症 RA 群と比較して有意に関節破壊進行度 (Steinbrocker Stage) や日常生活障害度 (Steinbrocker Class) が高く、また罹病期間が長期であった (いずれも $P < 0.001$)。その際、血中 APN 濃度は健常者と軽症 RA 群では有意差を認めなかったが、血中 APN-C1q 複合体濃度は健常者と比較して RA 患者で有意に高値であり、かつ関節破壊数に基づいた重症度と強い相関を示す (軽症 v.s. 重症 RA ; $P < 0.001$) ことが明らかとなった。一方、RA 群の血中 APN 濃度は血中 LDL-Chol や TG 濃度と負の、また血中 HDL-Chol 濃度と正の有意な相関を示したことより、RA 群においても APN は脂質代謝と強い相関を示すことが明らかとなった。以上より血中 APN と APN-C1q 濃度を同時にモニタリングすることは RA 患者の有用な関節破壊進行と脂質代謝異常症の予測マーカーとなる可能性が示された。

	健常者 (n=89)	全RA患者 (n=148)	軽症RA (n=103)	重症RA (n=45)	P value (mild v.s. severe RA)
Age, years	68.8 ± 7.4	65.7 ± 10.4	64.6 ± 11.2	68.4 ± 7.9	0.053
Body mass index, kg/m ²	21.9 ± 3.7	21.1 ± 2.9	21.0 ± 2.7	21.4 ± 3.4	0.488
Female (%)	94.4	84.5	78.6	97.8	0.003
Duration of disease, years		12.8 ± 9.3	8.8 ± 7.0	19.9 ± 9.4	0.000
Steinbrocker Stage		3.2 ± 1.1	2.9 ± 1.1	4.0 ± 0.2	0.000
Steinbrocker Class		1.9 ± 0.8	1.6 ± 0.6	2.6 ± 0.6	0.000
RF titer		127.5 ± 153.3	129.4 ± 160.8	123.5 ± 137.5	0.826
ACPA titer		132.7 ± 140.9	146.3 ± 150.1	99.9 ± 103.6	0.091
CRP, mg/liter		1.0 ± 1.9	1.1 ± 2.2	0.7 ± 1.0	0.122
ESR (1hr), mm		23.4 ± 15.2	23.4 ± 15.1	23.3 ± 15.8	0.985
MMP-3, ng/ml		126.4 ± 133.6	116.3 ± 110.6	150.6 ± 176.1	0.254
DAS28-CRP		2.7 ± 1.2	2.6 ± 1.2	2.9 ± 1.2	0.126
Prednisolone, mg/day		1.4 ± 1.8	1.4 ± 1.7	1.5 ± 2.0	0.756
MTX, mg/week		5.6 ± 4.0	6.0 ± 4.1	4.7 ± 3.7	0.062
Biologics (%)		12.8	5.8	28.9	0.0001
APN, ug/ml	13.4 ± 4.9	15.0 ± 7.6	13.2 ± 5.6	19.2 ± 9.9	0.0004
C1q, ug/ml	67.0 ± 11.0	67.0 ± 10.3	67.0 ± 9.3	66.7 ± 12.3	0.892
APN-C1q complex, units/ml	85.9 ± 27.4	102.2 ± 30.4	97.4 ± 28.3	113.4 ± 32.4	0.006



	APN ug/ml	C1q, ug/ml	C1q-APN, units/ml
Age, years	0.132	0.047	0.043
Body mass index, kg/m ²	-0.411***	0.130	-0.302***
Duration of disease, years	0.079	0.046	0.170
Steinbrocker Stage	0.118	-0.035	0.130
Steinbrocker Class	0.206*	-0.082	0.139
RF titer	-0.083	0.231**	0.130
ACPA titer	-0.059	0.168	0.086
CRP, mg/liter	-0.164	0.278**	0.207*
ESR (1hr), mm	0.040	0.154	0.257**
MMP-3, ng/ml	-0.026	0.031	0.027
DAS28-CRP	-0.145	0.270**	0.175*
HDL-cholesterol, mg/dl	0.374***	-0.118	0.131
LDL-cholesterol, mg/dl	-0.395***	0.159	-0.257**
TG, mg/dl	-0.276**	0.018	-0.197
Prednisolone, mg/day	-0.058	-0.082	0.025
MTX, mg/week	-0.078	0.018	0.000
Biologics (%)	0.121	-0.110	0.066
APN, ug/ml	-	-0.201*	0.487***
C1q, ug/ml	-0.201*	-	0.194*
APN-C1q complex, units/ml	0.487***	0.194*	-

また、我々はAPN同様、様々な脂質代謝関連因子とRA・骨粗鬆症との関連を調査検討している。我々は脂質代謝における重要な蛋白であるApoE蛋白をノックアウト(KO)したマウスが重度の骨粗鬆症を呈し、かつApoEがRA関節破壊や骨粗鬆症の原因となる破骨細胞の分化を抑制することを見出した。一方、成長因子プログランニューリン(PGRN)はTNF-シグナルを阻害して関節炎や動脈硬化を予防することが報告されているが、我々は健康者と比較してRA患者で血中PGRN濃度が有意に高値であり、かつPGRN KOマウスがWTマウスと比較して重度の骨粗鬆症を呈することや、PGRNは破骨細胞の分化を濃度依存的に抑制することを見出した。以上の結果よりApoEやPGRNはRAに伴う関節炎や骨粗鬆症に対する重要な治療ターゲットとなり得ると考えられ、更なる詳細な検討を行っている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計10件)

- Jin H, Arase N, Hirayasu K, Kohyama M, Suenaga T, Saito F, Tanimura K, Matsuoka S, Ebina K et al. Autoantibodies to IgG/HLA class II complexes are associated with rheumatoid arthritis susceptibility. Proc Natl Acad Sci U S A. 2014 Mar 11;111(10):3787-92. 査読有
- Ebina K, Shi K, Hirao M, Hashimoto J,

Kawato Y, Kaneshiro S, Morimoto T, Koizumi K, Yoshikawa H.

Oxygen and air nanobubble water solution promote the growth of plants, fishes, and mice.

PLoS One. 2013 Jun 5;8(6):e65339. 査読有

- Kaneshiro S, Ebina K, Shi K, Hirao M, Hashimoto J, Morimoto T, Koizumi K, Yoshikawa H. (corresponding author) IL-6 negatively regulates osteoblast differentiation through the SHP2/MEK2 and SHP2/Akt2 pathways in vitro. Journal of Bone and Mineral Metabolism, 2013 Oct 12. [Epub ahead of print] 査読有
- Ebina K, Shi K, Hirao M, Kaneshiro K, Morimoto T, Koizumi K, Yoshikawa K, Hashimoto J. Vitamin K2 administration is associated with decreased disease activity in patients with rheumatoid arthritis. ModRheumatol. 2013 Sep;23(5):1001-7. 査読有
- Hishitani Y, Ogata A, Shima Y, Hirano T, Ebina K, et al. Retention of Tocilizumab and Anti-Tumor Necrosis Factor Drugs in the Treatment of Rheumatoid Arthritis. Scand J Rheumatol. 2013;42(4):253-9. 査読有
- Nampe A, Shi K, Ebina K, Tomita T, Sugamoto K, Yoshikawa H, Hirao M, Hashimoto J. Prevalence of gastroesophageal reflux disease symptoms and related factors in patients with rheumatoid arthritis. J Clin Biochem Nutr. 2013 Mar;52(2):179-84. 査読有
- Hirao M, Oka K, Ikemoto S, Nakao R, Tsuboi H, Nampei A, Akita S, Shi K, Ebina K, et al. Use of a custom-made surgical guide in total ankle arthroplasty in rheumatoid arthritis cases. Techniques in Orthopaedics. 2013 under publish. 査読有
- Kawato Y, Hirao M, Ebina K, Shi K, Hashimoto J, Honjo Y, Yoshikawa H, Myoui A. (corresponding author) Nkx3.2 promotes primary chondrogenic differentiation by upregulating col2a1 transcription. PLoS One. 2012;7(4):e34703 査読有

9. Yamasaki N, Hirao M, Kawato Y, Ebina K, Oze H, Nampei A, Shi K, Yoshikawa H, Hashimoto J. Hypoxia favors maintenance of the vascular smooth muscle cell phenotype in culture. J Biochem Mol Toxicol. 2012 Oct;26(10):381-3. 査読有
10. Oze H, Hirao M, Ebina K, Shi K, Kawato Y, Kaneshiro S, Yoshikawa H, Hashimoto J. (corresponding author) Impact of medium volume and oxygen concentration in the incubator on pericellular oxygen concentration and differentiation of murine chondrogenic cell culture. In Vitro Cell Dev Biol Anim. 2012 Feb;48(2):123-30. 査読有

[学会発表](計 件)

1. 蛭名耕介、史賢林、吉川秀樹
脂肪細胞分泌因子アディポネクチン (APN)と補体 C1q の複合体 (APN-C1q) の血中濃度は非 RA 患者より RA 患者で有意に高値でありかつ破壊関節数による重症度と相関する
2014 年 4 月第 58 回日本リウマチ学会学術集会 東京
2. 野口貴明、蛭名耕介、史賢林、吉川秀樹
成長因子 Progranulin ノックアウトマウスは重度の骨粗鬆症を呈する
2014 年 4 月第 58 回日本リウマチ学会学術集会 東京
3. 野口貴明、蛭名耕介、史賢林、吉川秀樹
脂質運搬蛋白 ApolipoproteinE ノックアウトマウスは重度の骨粗鬆症を呈する
2014 年 5 月第 87 回日本整形外科学会学術集会 神戸
4. 野口貴明、蛭名耕介、史賢林、吉川秀樹
成長因子 Progranulin ノックアウトマウスは重度の骨粗鬆症を呈する
2014 年 5 月第 87 回日本整形外科学会学術集会 神戸

4. [図書](計 1 件)

蛭名耕介

関節リウマチにおける骨粗鬆症とその治療
2013 年臨床リウマチ 25 巻 1 号 14-19

6. 研究組織

(1)研究代表者

蛭名 耕介 (EBINA KOSUKE)

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：70612076