

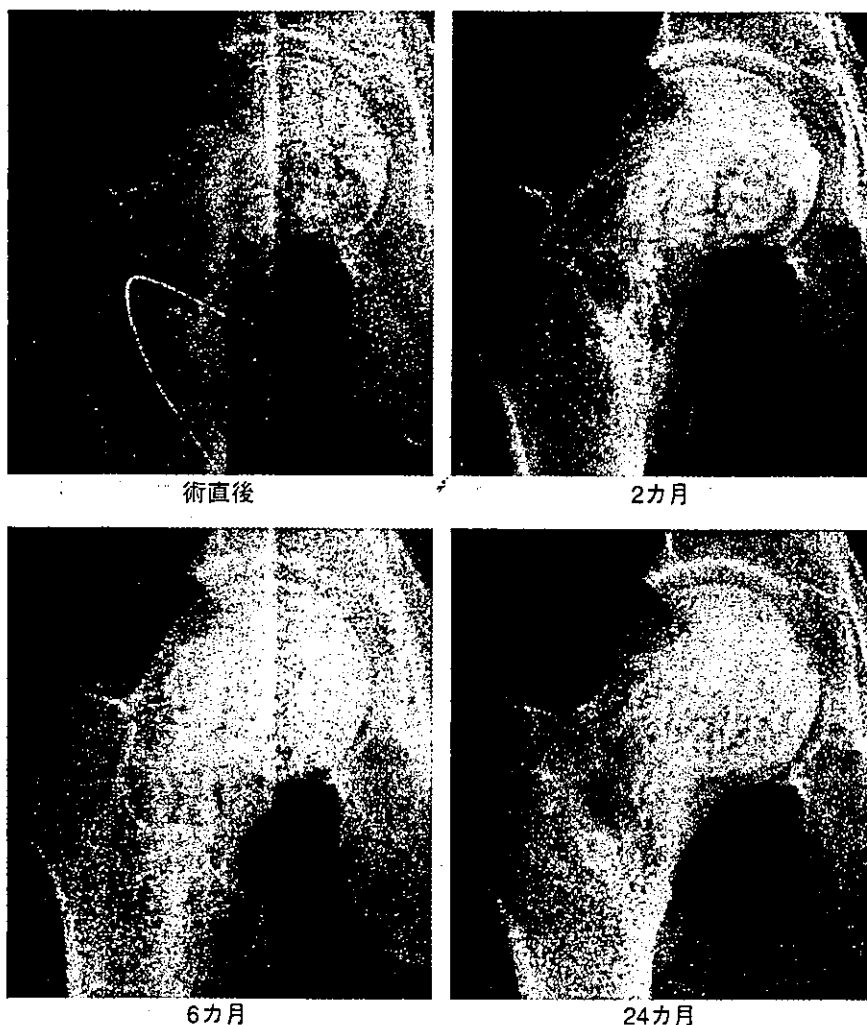
NEOBONE®の臨床使用

大阪大学医学部附属病院およびその関連施設において、新GCPに則った手続きを踏み、65症例66部位に対してNEOBONE®の臨床治験を行っている。

対象は、骨折および骨腫瘍の骨欠損、骨欠損を伴った関節リウマチ、変形性関節症である。術後経過をX線所見で観察すると、移植後2カ月で半数以上の症例にNEOBONE®内部、あるいはNEOBONE®/母床骨間に骨硬化像が確認され、移植後6カ月以内に6割以上の症例で明らかなX線透過性の減少がみられた⁵⁾。

これらの結果は、市販HA多孔体の過去の使用報告⁶⁾と比べて明らかに早く、臨床使用においてもNEOBONE®は優れた骨伝導能を有することが示された。

図3 【症例1】



症例提示

【症例1】(図3)

28歳，男性。大腿骨近位部非骨化性線維腫。

大腿骨頭から頸部に広がる病巣を搔爬後、骨欠損部にNEOBONE®顆粒および直方体を用いて補填した。移植後2カ月で軽度の骨硬化像が、6カ月で強い骨硬化像がみられる。移植後24カ月では強い骨硬化像が保たれ、頸部内側骨皮質の連続性も確認できた。

【症例2】(図4)

36歳，男性。脛骨骨幹部開放骨折後遷延治癒。

脛骨遠位骨幹部の開放性骨折後約3カ月にわたり創外固定にて固定するが、まったく治癒傾向が認められなかったため、骨折部にNEOBONE®顆粒と自家骨海綿骨チップを移植した。術後2年のX線像では完全な骨癒合が得られている。

図4 【症例2】

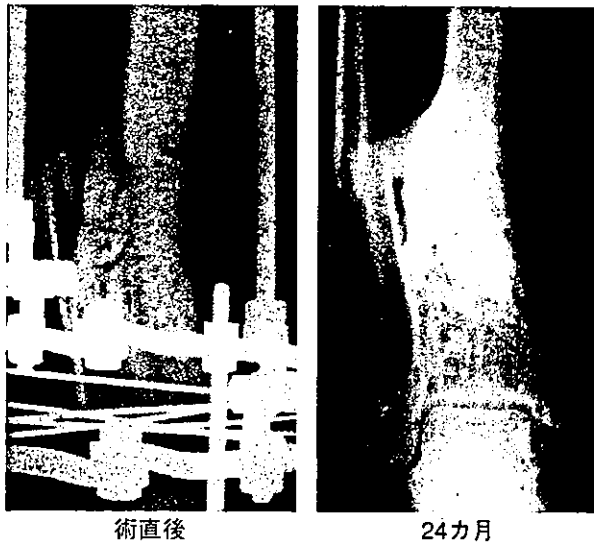
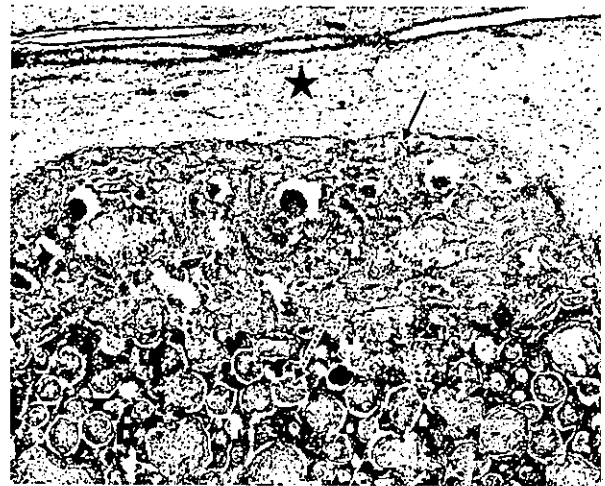


図5 血管導入によるBMP含浸NEOBONE®気孔内の骨形成

NEOBONE®内に導入された血管(星印)に沿うように、旺盛な骨形成が起こり(実線矢印)ほぼすべての気孔にも新生骨が観察された(破線矢印)。



NEOBONE®の臨床応用に向けて

● 基礎的研究

骨形成にとって血管新生は非常に重要な因子であり⁷⁾、血管内皮増殖因子(vascular endothelial growth factor ; VEGF)などを使用した骨形成の増強などの研究が近年なされている⁸⁾。

以前、本誌で触れたように、NEOBONE®に血管を導入することにより、NEOBONE®内の気孔に微細血管のネットワークを形成しえた⁹⁾。この微細血管が骨形成に対してどのような効果を示すかを検討するために、NEOBONE®にBMP (bone morphogenetic protein)を含浸させ、気孔内の異所性骨形成で評価した。図5に示すように、血管を導入したBMP含浸NEOBONE®では、血管に隣接する部位を中心にほぼすべての気孔に骨形成が観察された。その新生骨形成量は血管導入をしなかった場合に比べ10倍以上であり、NEOBONE®への血管導入は骨形成に非常に有利に作用することが示された¹⁰⁾。

● 臨床応用

巨大骨欠損部を補填する方法の1つとして、悪性骨腫瘍に対して術中体外放射線照射自家骨移植法にNEOBONE®を併用する試みを行っているので紹介する。

現在、悪性骨・軟部腫瘍の切除後の骨欠損に

対しては、金属製人工関節を用いた再建術が主流となっている。しかしながら利用できる部位が大腿骨、胫骨近位、上腕骨に限られており、また膝蓋腱や腱板などの筋腱付着部の再建が困難であるという問題点がある。これらの問題を解決する方法として、血管柄付自家骨移植、同種骨移植、骨延長術などさまざまな再建法があるが^{11), 12)}、関節、靭帯や腱付着部を温存しやすく機能温存に優れる術中体外放射線照射自家骨移植法をわれわれは積極的に試みている^{13), 14)}。

術中体外放射線照射自家骨移植法 (intraoperative extracorporeal autogenous irradiated bone grafting ; IO RBG)とは、腫瘍広範切除中に腫瘍と一塊にして摘出した自家骨を体外にて放射線一括照射後、再度体内に戻す方法で、再生自家骨移植の一方法である。

組織学的検討では、摘出自家骨内の腫瘍組織や骨髄組織は長期間壊死骨の状態にあり、移植骨の再生の妨げになっていると考えられるため、IO RBGに血管導入したNEOBONE®を組み合わせることを最近試みている。

19歳、女性の右胫骨近位部の骨肉腫に対して(図6 ②)、通常の腫瘍用人工関節では膝伸展機

図6 NEOBONE®の臨床応用

19歳、女性。脛骨近位骨肉腫。

①：MRI T1強調像。

②：三次元切削器(Roland DG, MDX-20)にて切削したカスタムデザインNEOBONE®。

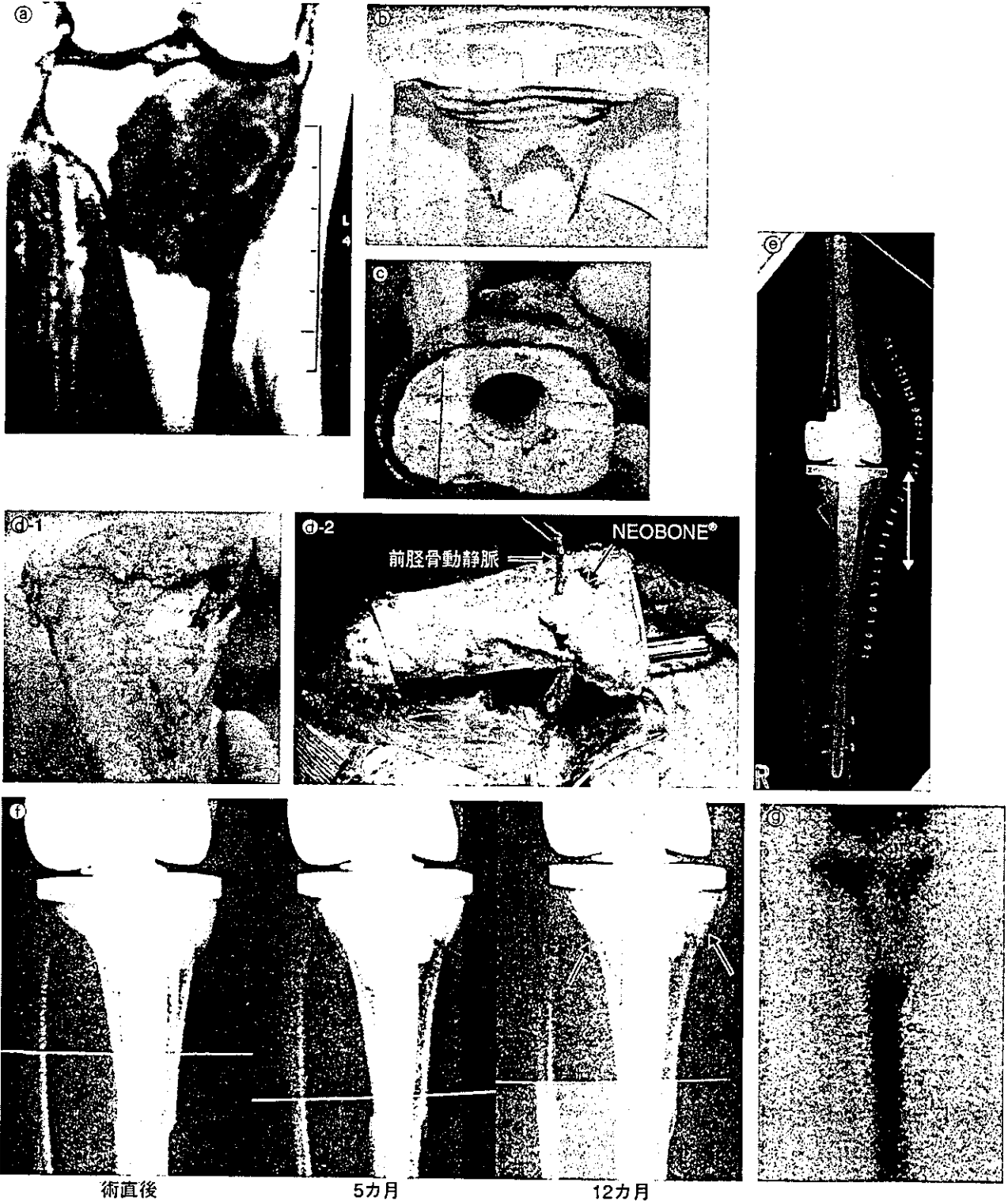
③：骨欠損部補填後。

④：NEOBONE®内に導入された前脛骨動静脈束。

⑤：術後X線像。矢印は放射線処理骨の範囲。

⑥：術後経過(術直後、術後5カ月、術後12カ月)に伴い血管を通してNEOBONE®内の骨孔(実線矢印)に骨硬化像が出現し、放射線照射骨の内側、外側の骨皮質(破線矢印)のリモデリングが観察できた。

⑦：骨シンチグラム(術後12カ月)。



構の温存が困難であるため、LINK社製ローテティングヒンジ型ロングステムTKAにIO RBGを併用して再建を行った。健側CT画像により髓腔の三次元CADモデルを作製しこのデータを元に、ブロック状のNEOBONE®を三次元切削器(Roland DG, MDX-20)にて切削することにより、患部の髓腔に合致するready-to-useのカスタムデザインNEOBONE®を作製した(図6 ㉔)。これを放射線照射骨の骨欠損部(腫瘍, 骨髄搔爬部)に補填し(図6 ㉕), 後方から前方に貫くように前脛骨動静脈束をNEOBONE®内に挿入している(図6 ㉖)。

術後, X線にて経過を追っていくと, 放射線照射骨の内側, 外側の骨皮質のリモデリングが起こり, 血管を通したNEOBONE®内の骨孔に骨硬化像が出現し, 術後1年の骨シンチグラフィでも, 移植したNEOBONE®の部位に一致して強いup-takeを認めた(図6 ㉗~㉙)。これまでの報告で放射線照射骨への, 骨組織, 血管の侵入は10カ月で正常骨組織との接合部から約1cm程度とされており¹¹⁾, これに比べると本症例は血管導入したNEOBONE®を併用することにより, これまでにない骨再生能力を獲得したと考えられる。

まとめ

今回, 高度骨欠損に対する骨補填材として, “起泡ゲル化技術”という三次元構造を制御する新たな手法を用いた新世代HA多孔体NEOBONE®を紹介した。NEOBONE®はすでに市販され臨床応用されている従来のHA多孔体と比べ, ①全気孔が細胞や組織が無理なく通過しうる大口径の気孔間連通孔で連結している, ②高い気孔率であるが, 気孔隔壁の構造は緻密体HAと同様の構造をもつため, 臨床使用に十分耐える強度を有する, などという点で非常に優れた特性をもつ。

動物実験でも, 早期より深部気孔内への骨

伝導能が証明されたが, 臨床使用においてもX線評価にて同様の優れた骨伝導能を示した。組織工学的アプローチとして, 血管をNEOBONE®に導入することにより, 骨再生を促進した基礎実験・臨床症例を示したが, 今後その連通気孔構造をいかしてBMPやVEGFなどの分化・増殖因子や骨形成性細胞を気孔内に導入した生体活性型人工骨が臨床応用されれば, これまで困難であった難治性骨関節疾患の治療に貢献できることを期待する。

◆文 献◆

- 1) Ayers RA, Simske SJ, Nunes CR, et al : Long-term bone ingrowth and residual microhardness of porous block hydroxyapatite implants in humans. *J Oral Maxillofac Surg*, 56 : 1297-1301, 1998.
- 2) 日比敦夫, 石川忠也, 浅野昌育ほか : 良性骨腫瘍に対するハイドロキシアパタイト充填後の成績不良例についての検討. *整形外科*, 45 : 1423-1428, 1994.
- 3) Tamai N, Myoui A, Tomita T, et al : Novel hydroxyapatite ceramics with an interconnective porous structure exhibit superior osteoconduction *in vivo*. *J Biomed Mater Res*, 59 (1) : 110-117, 2002.
- 4) Akita S, Tamai N, Myoui A, et al : Capillary vessel network integration by inserting a vascular pedicle enhances bone formation in tissue engineered bone using interconnected porous hydroxyapatite ceramics. *Tissue Engineering*, in press.
- 5) 名井 陽, 古野雅彦, 荒木信人ほか : 連通気孔を有する新規ハイドロキシアパタイトセラミックスの優れた骨伝導能. *臨整外*, 36 (12) : 1381-1388, 2001.
- 6) 望月一男, 石井良章, 佐々木 茂 : 骨欠損に対するハイドロキシアパタイト単独補填術の治療成績. *整形外科*, 48 : 1043-1051, 1997.
- 7) Mori S, Yoshikawa H, Hashimoto J, et al : Antiangiogenic agent (TNP-470) inhibition of ectopic bone formation induced by bone morphogenetic protein-2. *Bone*, 22 : 99, 105, 1998.
- 8) Tarkka T, Sipola A, Jamsa T, et al : Adenoviral

- VEGF-A gene transfer induces angiogenesis and promotes bone formation in healing osseous tissues. *J Gene Med*, 5 (7) : 560-566, 2003.
- 9) 玉井宣行, 西川昌孝, 名井 陽ほか: 新規人工骨の開発と骨組織のtissue engineeringの試み. *関節外科*, 21 : 1272-1278, 2002.
- 10) Myoui A, Tamai N, Nishikawa M, et al : Three-Dimensionally Engineered Hydroxyapatite Ceramics with Interconnected Porous as a Bone Substitute and Tissue Engineering Scaffold. *Biomaterials in Orthopedics*, 2003, p287-300.
- 11) Gidumal R, Wood MB, Sim M, et al : Vascularized bone transfer for limb salvage and reconstruction after resection of aggressive bone lesions. *J Reconstr Microsurg*, 3 : 183-188, 1987.
- 12) Tsuchiya H, Tomita K, Minematsu K, et al : Limb salvage using distraction osteogenesis ; a classification of the technique. *J Bone Joint Surg*, 79-B : 403-411, 1997.
- 13) 名井 陽, 上田孝文, 玉井宣行ほか: 術中体外放射線照射自家骨移植法. *別冊整形外科*, 43 : 152-157, 2003.
- 14) Araki N, Myoui A, Kuratsu S, et al : Intraoperative extracorporeal autogenous irradiated bone grafts in tumor surgery. *Clin Orthop*, 368 : 196-206, 1999.

II. 骨代謝調節系

骨芽細胞の機能・骨形成メカニズム 骨形成促進因子

骨形成因子 (BMP)

Bone morphogenetic proteins

樋口周久 吉川秀樹

Key words : 骨形成因子, 間葉系細胞, 骨芽細胞

はじめに

1965年, Urist¹⁾は塩酸脱灰骨による異所性骨誘導現象を発見し, 骨基質中には軟骨・骨形成の誘導能を有する因子(骨形成因子(bone morphogenetic protein: BMP))が存在することを証明した。1988年, Wozneyら²⁾によって2種類のBMPのcDNAがクローニングされ, これを契機に約20種類のBMPファミリーの遺伝子が同定されている。当初, *in vivo*における骨形成誘導能を有する蛋白として見いだされたBMPは, 一連の研究により骨形成以外に, 初期発生過程や各種器官形成過程, あるいは細胞死など多彩な機能を有することが示されている³⁾。現在, 骨折治癒や骨癒合促進, 骨欠損部の骨再生などに対してヒト組換え型BMP-2やBMP-7による基礎研究や臨床研究が盛んに行われており, またBMPの遺伝子導入による骨・軟骨再生研究が進められている。一方, 心筋再生など広い領域での組織, 器官再生への臨床応用も期待されている。

本稿では, 多機能を有するBMPの作用機序および機能を, 特に間葉系細胞, 軟骨細胞, 骨芽細胞分化に焦点を絞り概説する。

1. BMPの構造とシグナル制御

BMPは分子量約3万, 約100-120アミノ酸をもつサブユニットがジスルフィド結合によって2量体を形成している分泌蛋白質である。TGF- β とアミノ酸配列で30-40%の相同性をもつTGF- β スーパーファミリーに属し, BMPサブファミリーを形成している(図1)。ほとんどのBMPは異所性に骨・軟骨を形成する作用があるが, 骨・軟骨以外の細胞増殖や分化, 発生初期における形態形成など多種の作用をもつことが明らかになっている³⁾。BMPは細胞内で約300-400アミノ酸数をもつ前駆体として合成され, その後2量体形成, N末端の一部が切断除去され, 成熟蛋白として分泌され作用する。成熟蛋白は標的となる細胞表面に存在する2種類に分類されるセリンスレオニンキナーゼ型レセプターに結合し, 細胞内へシグナルを伝達する。BMPのレセプターへの結合はI型レセプターのリン酸化を引き起こし, 細胞内のシグナル伝達分子である特異型SmadのSmad1/5/8を活性化する。活性化された特異型Smadは共有型SmadであるSmad4と複合体を形成して核内に移行し, 軟骨形成や骨形成に必須であるRunx2/Cbfa1など他の転写因子と協調してBMP応答遺伝子の転写を調節している。

Chikahisa Higuchi, Hideki Yoshikawa: Department of Specific Organ Regulation, Graduate School of Medicine, Osaka University (Department of Orthopaedics, Osaka University Medical School) 大阪大学大学院医学系研究科臓器制御医学専攻器官制御外科(大阪大学医学部整形外科)

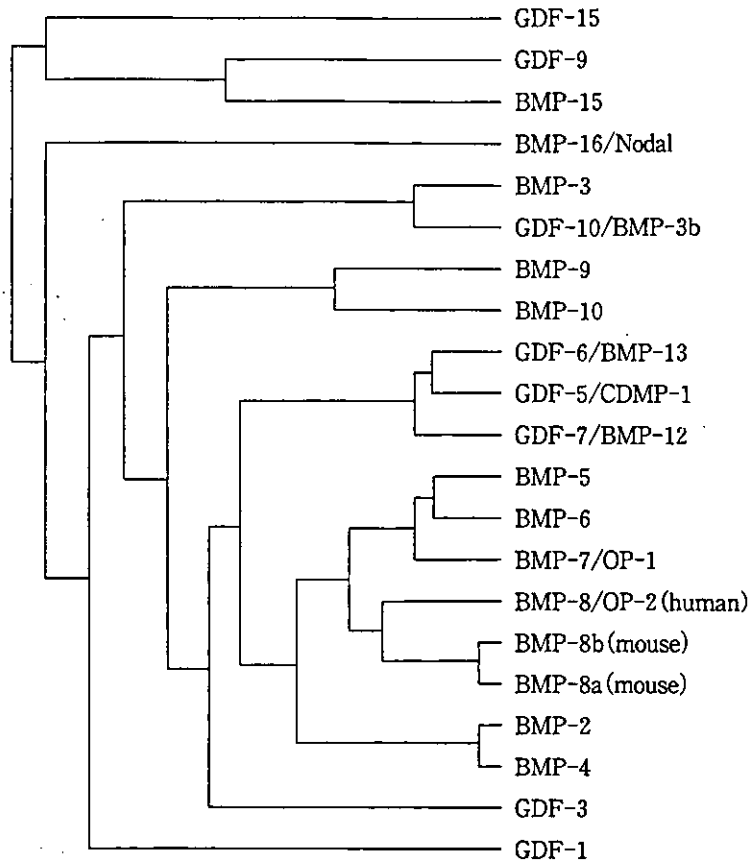


図1 BMPサブファミリーの系統樹(文献³⁾より改変)

BMP: bone morphogenetic protein, GDF: growth differentiation factor, OP: osteogenic protein, CDMP: cartilage-derived morphogenetic protein

このシグナル伝達系は細胞内外で調節されている。細胞外には、Noggin, Chordin, Follistatin, DANファミリー蛋白などのBMPに結合するアンタゴニストが存在している⁴⁾。レセプターレベルでは、おとりレセプターとして考えられているBAMBIの発現によりBMPシグナルを抑制することが報告されている⁵⁾。また、抑制型SmadであるSmad6/7がI型レセプターに結合し、特異型Smadの活性化を抑制している。特に抑制型SmadはBMPによりその発現が誘導されることから、BMPは自らのシグナルで自己のシグナルを調節していると考えられる⁶⁾。細胞質内では、特異型Smadを分解するSmurf-1が存在し、特異型Smadの量を調節してBMPシグナルを負に制御している⁷⁾。また、抑制型Smadが特異的Smadと共有型Smadの複合体形成を阻害しているという報告もある。一方、核

内ではTobやc-skiなどの転写因子やp300/cAMP-response element binding protein (CREB) binding protein (CBP)などの共役因子がSmadと結合してBMP応答遺伝子の転写を制御している。

BMPシグナル伝達系は、他のサイトカインシグナル伝達系や細胞内シグナル伝達系とクロストークしている。EGFやFGFのシグナルを司るmitogen activated protein (MAP) キナーゼシグナル伝達系⁸⁾や細胞運動などのシグナルを司るRho-Rho キナーゼ伝達系などのシグナル伝達系⁹⁾がBMPシグナルを修飾している。最近の報告では、 β -cateninを細胞内伝達分子としてもつWntシグナル伝達系とBMPシグナルとのクロストークも指摘されており¹⁰⁾、BMPシグナルの作用とその機序は複雑なメカニズムによって制御されていると推測されている。

2. BMPの機能

a. 細胞レベルでの作用⁴⁾

1) 間葉系細胞の分化

種々の培養細胞や初代培養細胞に対するBMPの機能が解析されている。多分化能を有するマウスやラット未分化間葉系細胞株、骨髄間葉系細胞株、マウスやヒトの初代骨髄間葉系細胞を用いたBMP-2, BMP-4, BMP-6, BMP-7の作用が報告されている。BMP-2やBMP-7はその濃度や細胞種によって骨芽細胞分化をはじめ軟骨細胞分化、脂肪細胞分化させる作用が示されている。また、同じBMPサブファミリー蛋白でも、骨芽細胞分化への方向性は示すが、骨芽細胞分化マーカーであるアルカリホスファターゼ活性やオステオカルシン発現には相違を認めることが報告されている。したがって、BMPは未分化間葉系細胞に対して骨・軟骨および脂肪へ分化させる働きがあることは明らかであるが、BMPの種類や作用を受ける細胞種によって応答性に差があることが示唆される。一方、筋肉の衛星細胞由来で筋管細胞へ分化するマウス間葉系細胞株C2C12細胞は、BMP-2, BMP-6, BMP-7の処理により筋管細胞への分化が完全に抑制され、骨芽細胞へ分化する。また、ラット前脂肪細胞株3T3-F442A細胞ではBMP-2が脂肪細胞分化を抑制し、骨芽細胞分化させることが報告されている。したがって、BMPは未分化な間葉系細胞を骨芽細胞へ分化させるのみならず、多分化能をもつ筋原性細胞や前脂肪細胞を骨芽細胞分化させる作用を有する。

2) 骨芽細胞の分化

BMPは骨芽細胞へ分化が決定した未熟な骨芽細胞を更に分化させる機能を有する。マウス胎児頭蓋冠から樹立された前骨芽細胞株であるMC3T3-E1細胞や新生仔ラット頭蓋冠から樹立された未分化な骨芽細胞様細胞株ROB-C26細胞において、BMP-2やBMP-6はアルカリホスファターゼ活性、オステオカルシン産生を促進し、細胞外基質の石灰化を亢進させる。BMP-7もMC3T3-E1細胞の骨芽細胞分化マ

ーカー発現を促進させることが報告されている。また、マウスやラットの初代胎児頭蓋冠培養骨芽細胞においてもBMP-2やBMP-7は骨芽細胞分化マーカーの発現を促進させ、細胞外基質石灰化を促進する。

b. 個体レベルでの作用

1) 発生における作用³⁾

BMP-4は発生過程において種々の臓器に発現している。このノックアウトマウスは中胚葉の形成不全にて胎生7.5-9.5日までに致死となる。また、BMP-2のノックアウトマウスは、羊膜や漿膜の形成異常や心臓の形成異常で胎生致死となる。グループが異なるBMP-7のノックアウトマウスは、頭蓋の変形や多指症を示し、眼と腎臓の形成異常にて出生直後に死亡する。BMP-8のノックアウトマウスは精子形成異常を起こす。これらのことは、BMPが初期発生過程や骨・軟骨形成を含む多種の臓器形成に重要な作用をしていることを示している。

2) 骨・軟骨発生における作用³⁾

BMP-2, BMP-3, BMP-4, BMP-5, BMP-6, BMP-7, BMP-8, GDF-5など多くのBMP遺伝子が発生過程で骨格を形成する細胞に発現している。また、成長軟骨帯ではBMP-2, BMP-6, GDF-5などが発現しており、軟骨分化や長管骨の長軸成長にかかわっていることが示されている。実際にBMP-5遺伝子に変異をもつマウスは頭蓋の変形や長管骨の幅の短縮、耳介の低形成などの骨格異常を認める。また、GDF-5遺伝子変異マウスでは四肢長管骨や中手骨などの短縮や関節癒合を認める。BMP-6のノックアウトマウスでは、他のBMPの代償により全身骨格の異常は認めないが、胸骨の石灰化遅延が認められる。BMP-4を軟骨細胞特異的に発現させたトランスジェニックマウスでは長管骨の幅の増大や脊柱異常を認めている。一方、BMPのアンタゴニストであるNogginを軟骨細胞特異的に発現させると、軟骨形成が阻害されることから、BMPは骨形成のみならず軟骨形成にも重要な機能を有していると考えられる。Nogginのノックアウトマウスでは、BMPシグナルの亢進のため骨・軟骨

形成の促進と関節形成不全を認めており、多くのBMPが骨・軟骨形成に促進的に働いていることが示されている¹¹⁾。一方、BMP-3のノックアウトマウスは骨格と形状は正常マウスと変わらないが骨量の増加を認め、骨形成を抑制している可能性が報告されている¹²⁾。

3) 生体における骨形成作用

骨は外的な力によりその連続性が絶たれるが、生体内では修復機転が認められ治癒していく。この骨折治癒過程においてもBMPの発現が認められている¹³⁾。マウスやラットの長管骨骨折モデルにおける治癒過程を解析すると、外骨膜細胞や骨折部の髄腔内の線維芽細胞様細胞が骨折後12時間よりBMP-4のmRNAを発現していることが報告されている。また、骨折治癒過程に生じる軟骨仮骨内の軟骨細胞にBMP-2やBMP-4が発現している。これらの発現は一過性かつ特異的な領域に限られ、治癒過程が進行するにつれその発現は消失していく。一方、骨再生を目指した、ヒト組換え型BMP-2やBMP-7による異所性骨形成や、骨折治癒促進作用の報告が多くなされている。これは生体内でBMPに反応する細胞が存在し、骨芽細胞

に分化することを示唆するものである。また、HMG Co-A阻害剤であるスタチンがBMPの発現を介して骨形成を促進すること¹⁴⁾や、BMP-2腹腔内投与により卵巣摘出マウスの骨粗鬆症の改善がみられることが報告されている¹⁵⁾。これらの事実は、生体においてもBMPが機能し、骨・軟骨形成に重要な働きをしていることを示唆している。

おわりに

BMPは異所性骨形成の誘導活性を有する蛋白として発見され、骨形成メカニズムの解明を中心に様々な研究が行われてきた。現在、ヒト組換え型BMP-2やBMP-7が骨形成促進、骨癒合促進に対して臨床応用されつつあり、その効果が期待されている。BMPを用いた骨粗鬆症治療へのアプローチとしては、脆弱化した骨の補強や、骨折治癒の促進が考えられる。BMP活性は標的細胞内外での複雑な制御がなされており、今後更に詳細な活性制御機構が解明されることにより、より効率の良いBMPの臨床応用が可能になると思われる。

■ 文 献

- 1) Urist MR: Bone formation by autoinduction. *Science* 150: 893-899, 1965.
- 2) Wozney JM, et al: Novel regulators of bone formation: molecular clones and activities. *Science* 242: 1528-1534, 1988.
- 3) Chang H, et al: Genetic analysis of the mammalian transforming growth factor- β superfamily. *Endocr Rev* 23: 787-823, 2002.
- 4) Yamaguchi A, et al: Regulation of osteoblast differentiation mediated by bone morphogenetic proteins, hedgehogs, and Cbfa1. *Endocr Rev* 21: 393-411, 2000.
- 5) Onichtchouk D, et al: Silencing of TGF- β signaling by the pseudoreceptor BAMBI. *Nature* 401: 480-485, 1999.
- 6) Takase M, et al: Induction of Smad6 mRNA by bone morphogenetic proteins. *Biochem Biophys Res Commun* 244: 26-29, 1998.
- 7) Zhu H, et al: A Smad ubiquitin ligase targets the BMP pathway and affects embryonic pattern formation. *Nature* 400: 687-693, 1999.
- 8) Kretzschmar M, et al: Opposing BMP and EGF signaling pathways converge on the TGF- β family mediator Smad1. *Nature* 389: 618-622, 1997.
- 9) 吉川秀樹: BMPの応答制御機構の解析. *Bone* 16: 287-291, 2002.
- 10) Gong Y, et al: LDL receptor-related protein 5 (LRP5) affects bone accrual and eye development. *Cell* 107: 513-523, 2001.
- 11) Brunet LJ, et al: Noggin, cartilage morphogenesis, and joint formation in the mammalian skeleton. *Science* 280: 1455-1457, 1998.
- 12) Daluiski A, et al: Bone morphogenetic protein-3 is a negative regulator of bone density. *Nat Genet*

- 27: 84-88, 2001.
- 13) Bostrom MP: Expression of bone morphogenetic proteins in fracture healing. *Clin Orthop* 355 (Suppl): S116-S123, 1998.
 - 14) Mundy G, et al: Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins. *Science* 286: 1946-1949, 1999.
 - 15) Turgeman G, et al: Systemically administered rhBMP-2 promotes MSC activity and reverses bone and cartilage loss in osteopenic mice. *J Cell Biochem* 86: 461-474, 2002.

人工骨材料と骨・関節修復

—新規全気孔連通型 HA 多孔体 NEOBONE® を用いた骨・関節修復—

玉井宣行* 名井 陽* 橋本英雄* 西川昌孝* 藤井昌一**
 中瀬尚長† 橋本 淳* 上田孝文* 越智隆弘* 吉川秀樹*

本稿では高度骨欠損に対する骨補填材として、“気泡ゲル化技術”という三次元構造を制御する新たな手法を用いた新生代 HA 多孔体 NEOBONE® を紹介した。NEOBONE® は従来の HA 多孔体とくらべ①全気孔が細胞や組織が無理なく通過しうる大口径の気孔間連通孔で連結している、②高い気孔率であるが気孔隔壁の構造は緻密体 HA と同様の構造をもつため臨床使用に十分耐える強度を有する、などという点で非常にすぐれた特性をもつ。動物実験でも早期より深部気孔内への骨伝導能が証明されたが、臨床使用においても X 線評価にて同様のすぐれた骨伝導能を示した。また、自己骨髄培養幹細胞を用いた培養骨技術を紹介したが、今後臨床応用にてこれまで困難であった難治性骨関節疾患の治療に役立つことを期待する。

はじめに

整形外科分野において骨腫瘍、外傷、リウマチ性疾患など種々の病変による骨欠損に対し、古くから骨盤や腓骨などからの自家骨移植がすぐれた方法として一般的に用いられてきたが、採骨に伴う手術侵襲、採骨部の傷や疼痛、採骨部の術後骨折などの合併症があるうえに、絶対的な供給量に問題がある。近年自家骨にかわり、アル

ミナ、ジルコニア、バイオガラス、ハイドロキシアパタイト (hydroxyapatite : HA) などさまざまな素材が人工骨として使用されてきている。そのなかでも、HA は哺乳類の骨、歯の無機質成分に類似しており、その生体親和性、骨伝導能をみても人工骨として非常に適していると考えられる。それらのことより、1980 年代より整形外科、歯科口腔外科領域において骨補填剤として HA 多孔体を使用されている。HA 多孔体は当初その気孔内に新生骨が侵入し母床骨と完全に同化することが期待されたが、HA 多孔体が新生骨に完全に置換されるという報告はなく、むしろさまざまな臨床症例の解析から気孔内への新生骨侵入は数ミリ程度であることが明らかになってきた¹⁾。このような新生骨が侵入しない気孔は強度面で非常に不利であり、HA 多孔体移植後骨折を合併した症例の報告も見受けられる²⁾。これらは気孔と気孔を結ぶ連通構造に問題があり、深部への組織侵入、骨新生を阻害していたためと考えられる。このような問題点を解決するため、われわれは物質・材料研究機構、東芝セラミックス株式会社、株式会社 MMT との共同開発で新しい製



KEY WORDS

ハイドロキシアパタイト
 気孔間連通孔
 骨移植
 間葉系幹細胞

* TAMAI Noriyuki, MYOUI Akira, HASHIMOTO Hideo, NISHIKAWA Masataka, HASHIMOTO Jun, UEDA Takafumi, OCHI Takahiro, YOSHIKAWA Hideki/大阪大学大学院医学研究科臓器制御外科専攻器官制御外科学講座

** FUJII Shouichi/医療法人ガラシア会ガラシア病院整形外科

† NAKASE Takanobu/国立病院大阪医療センター整形外科

造法“気泡ゲル化技術”を取り入れ新規 HA 多孔体を開発した。この HA 多孔体は均一な気孔構造と適度な気孔間連通構造を特徴としている³⁾。本稿では、この新規 HA 多孔体 (NEOBONE[®]) の特徴を述べ、さまざまな疾患に対する臨床成績を紹介する。

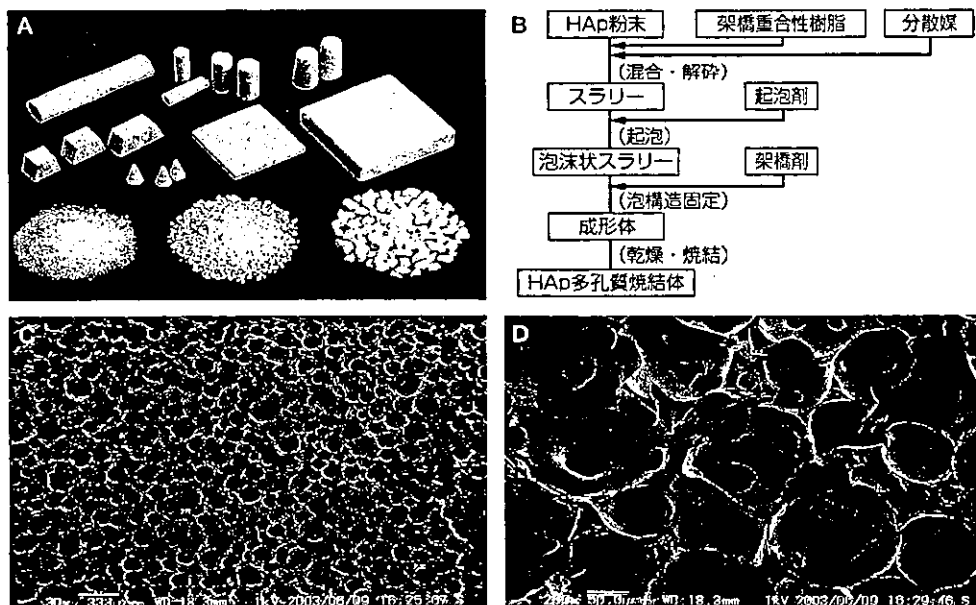
① 新規 HA 多孔体 (NEOBONE[®]) の開発

今回われわれが新規開発した NEOBONE[®] (図① A) は、気孔率 75%、平均気孔径 150 ミクロン、初期強度 12 MPa であり、製法上の特徴は起泡ゲル化技術を取り入れたことである³⁾。起泡ゲル化技術とは、①HA スラリーに起泡剤を加えて一定の条件で攪拌することにより泡沫状のスラリーを作製し②ポリエチレンイミンと水溶性の多官能基エポキシ化合物を組み合わせた架橋重合反応により、短時間で泡沫状のスラリーを全域にわたって同時に固める手法である (図① B)。

図① C, D に NEOBONE[®] の電子顕微鏡写真を示す。NEOBONE[®] の気孔は、ほぼ球形で比較的均一なサイズの気孔が規則正しく配列し、ほぼ全気孔が気孔間連通孔で連絡した構造を有していた。気孔隔壁は 10~20 ミクロ

ンを有し、その表面は HA 粒子が密に秩序よく配列されていた。水銀圧入ポロシメトリーによる気孔の連通状態の検討では、連通孔径分布は 10~80 ミクロン (平均 40 ミクロン) であり、NEOBONE[®] の気孔の約 90% が細胞や組織が十分通過できる大きさの連通孔でつながっていた。力学的強度は初期圧縮強度で 10 MPa 以上で臨床応用されている同等の気孔率を有する HA 多孔体と比較してすぐれた数値を示した。この強度は電子顕微鏡所見からもわかるように気孔が均一でほぼ球形であり、骨格部分の HA 粒子間の結合が強固であることによって得られたと考えられる。

直径 6 mm の NEOBONE[®] 円柱ブロックを白色家兎大腿骨に移植し骨伝導能を検討した。大腿骨に移植した多孔体内への組織の侵入を、三次元的にとらえるため、表層からの距離によりゾーン分けをおこない、母床骨に接している円柱ブロックの最外側部 1 mm をゾーン S、母床骨より最も離れている最深部 1 mm をゾーン D とした (図② A)。移植後 2 週間では、母床骨に接しているゾーン S で三日月状の無数の新生骨が観察できた。ゾーン D では、細胞浸潤がほとんどなく、血塊が大部分を占



図① NEOBONE[®] とその構造
 A: マクロ像
 B: 製造方法
 C: 電子顕微鏡写真 (×30)
 D: 電子顕微鏡写真 (×200)

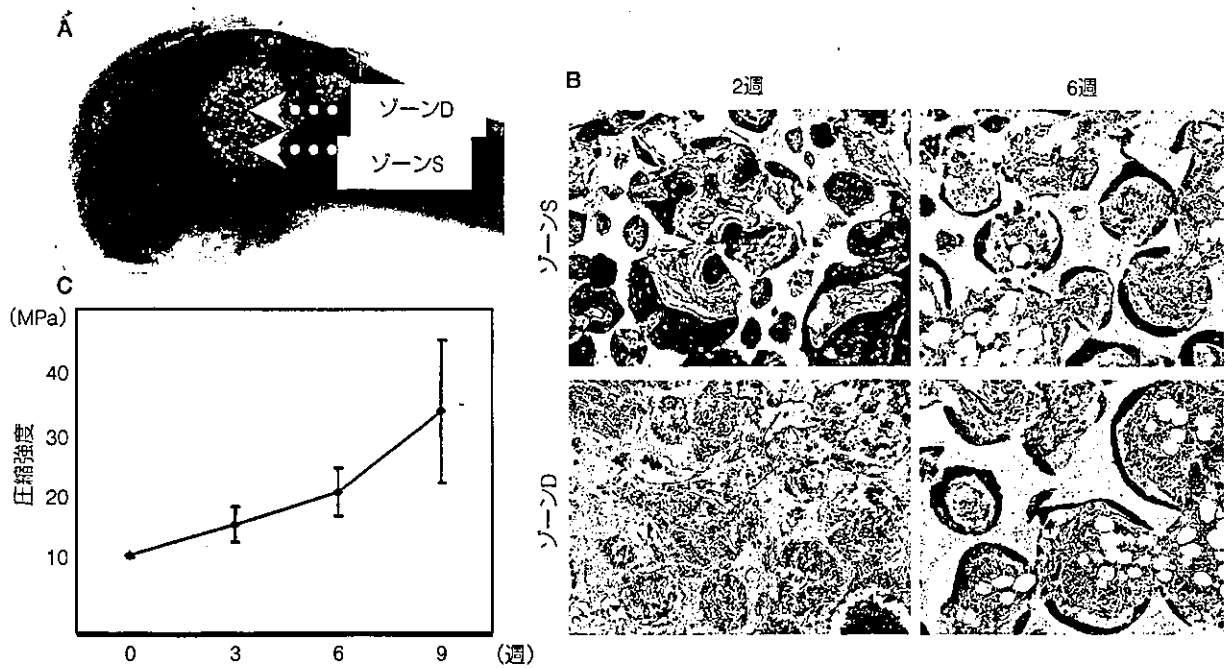


図2 NEOBONE® の骨伝導能と圧縮強度
 A: 白色家兎大腿骨埋入実験とゾーン分け(大腿骨顆部に直径6mmのドリルホールをあけ、高さ15mmのNEOBONE®円柱を移植)
 B: ゾーン別気孔内の骨形成(ヘマトキシリン・エオジン染色, ×100)
 C: 経時的圧縮強度の推移

めていた。移植後6週間では、ゾーンSからゾーンDまでのすべての気孔に豊富な新生骨髄を伴う新生骨を確認することができ、非常にすぐれた骨伝導能を示した(図2B)。この骨新生に伴い圧縮強度は移植後9週間で初期強度の3倍に達していた(図2C)。

3 NEOBONE® の臨床使用

大阪大学医学部付属病院およびその関連施設において、新GCPに則った手続きを踏み、65症例66部位に対してNEOBONE®の臨床治験をおこなっている。対象は、骨折および骨腫瘍の骨欠損、骨欠損を伴った慢性関節リウマチ、変形性関節症である。術後経過をX線所見で観察すると、移植後2ヵ月で半数以上の症例にNEOBONE®内部あるいはNEOBONE®/母床骨間に骨硬化像が確認され、移植後6ヵ月以内に6割以上の症例で明確なX線透過性の減少がみられた¹⁾。これらの結果は市販HA多孔体の過去の使用報告²⁾とくらべて明らかに早く、臨床使用においてもNEOBONE®はすぐれた骨伝導能を有することが示された。

4 症例提示

【症例1】(図3)

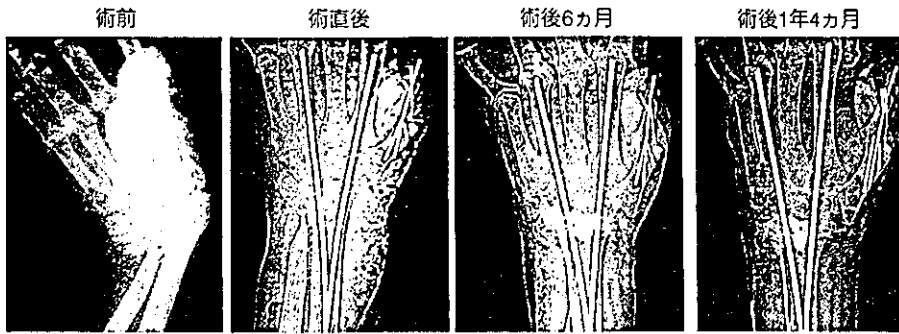
59歳、女性。関節リウマチ(ムチランス型、ステージIV、クラスIII)。

手関節の尺側偏移、掌側脱臼を認め、X線像では遠位橈尺関節、手根骨、母指節間関節(interphalangeal: IP)、母指節関節(metacarpophalangeal: MP)の破壊が著しい。疼痛も著しいためNEOBONE®を用いた手関節固定術、IP、MP関節固定術をおこなった(自家骨は使用していない)。術後6ヵ月後にはNEOBONE®の強い硬化像を認め、関節の固定性も良好となり、術後1年4ヵ月ではNEOBONE®のX線透過性は増加しリモデリングが示唆された。

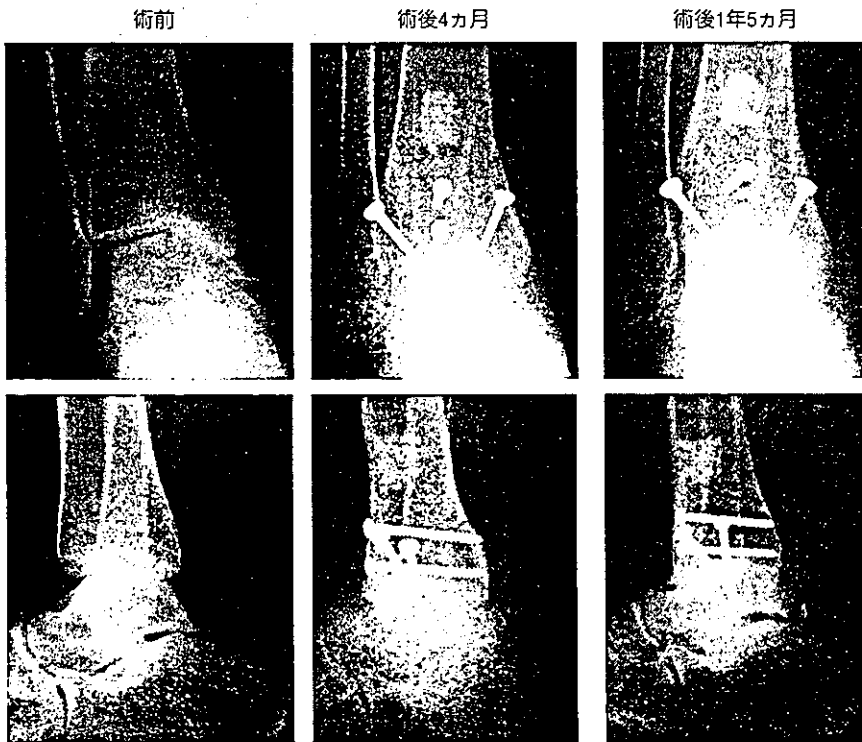
【症例2】(図4)

53歳、女性。変形性足関節症。

著しいROM制限、歩行時痛があるために、Blair法による足関節固定術をおこなった。スライディング・ボー



図③ 症例1, 関節リウマチに対する関節固定術への適応



図④ 症例2, 変形性足関節症に対する関節固定術への適応

ン上部の脛骨骨欠損部には、顆粒状のNEOBONE®を、また足関節の骨欠損部には4mm厚の板状NEOBONE®と顆粒状のNEOBONE®を移植した(自家骨も併用)。術後、経時的にNEOBONE®の硬化像が強くなり、足関節の骨癒合も良好となっている。

【症例3】(図⑤)

36歳, 男性, 脛骨骨幹部開放骨折後遷延治癒。

脛骨遠位骨幹部の開放性骨折後約3ヵ月にわたり創外固定にて固定するもまったく治癒傾向が認められなかつ

たため、骨折部にNEOBONE®顆粒と自家骨海綿骨チップを移植した。術後2年のX線像では完全な骨癒合が得られている。

⑤ NEOBONE®の臨床応用にむけて

これまでにNEOBONE®を用いた臨床使用例を示し、NEOBONE®のこれまでにないすぐれた骨伝導能を示した。しかしながら、NEOBONE®単独で使用可能なのは骨再生条件の良好な比較的小さな骨欠損にかぎられる。感染による骨欠損、偽関節、腫瘍による高度骨欠損

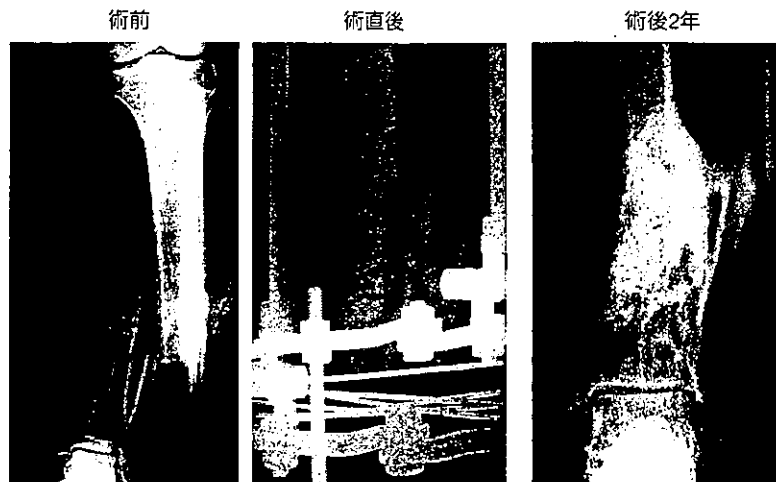


図6 症例3, 開放骨折後遷延治療への適応

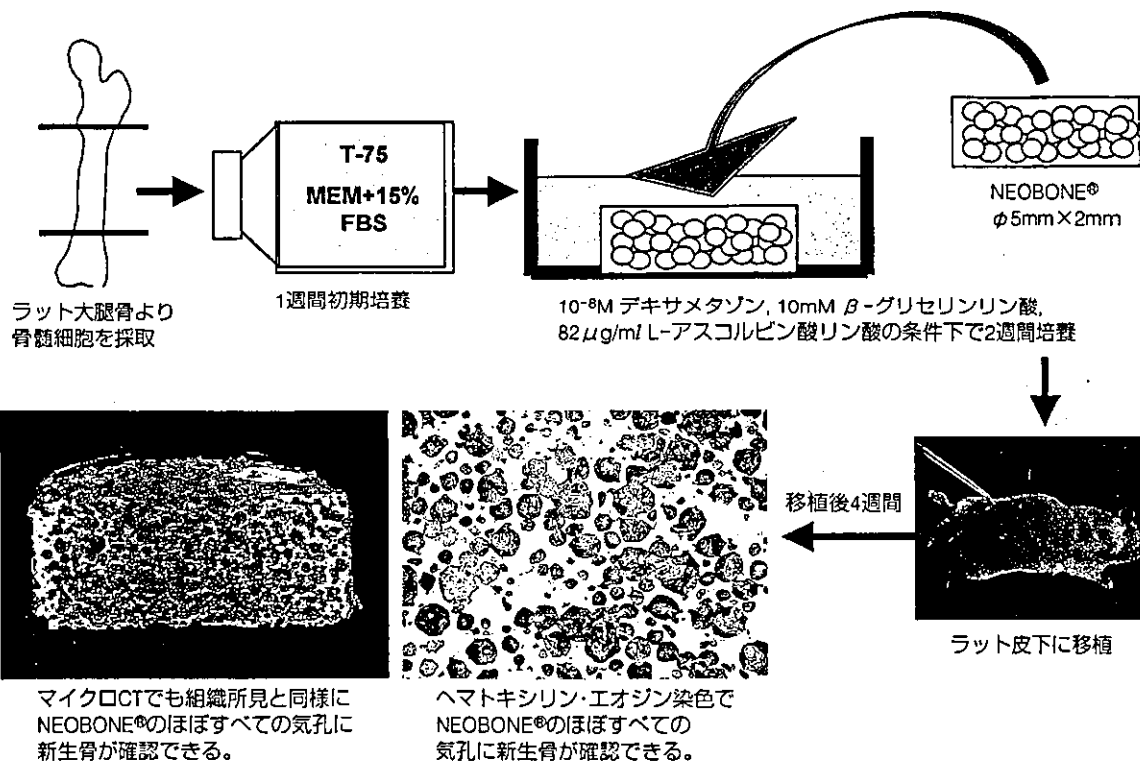


図7 NEOBONE® を使用した培養骨の基礎的研究 (ラット)

などの骨形成条件の悪い部位には NEOBONE® 単独での骨移植では不十分で, NEOBONE® 自体に骨形成能を有する bio-active NEOBONE® (培養骨) が必要と考えられる. 骨髓には, 間葉系幹細胞が存在し, この幹細胞は骨を形成する骨芽細胞に分化することが報告されている⁶⁾. 今回われわれは, Yoshikawa ら⁷⁾の方法により,

ラットより採取した新鮮骨髓幹細胞を培養し浮遊細胞を除去し, 付着細胞を増殖させた後 NEOBONE® に含浸させ, それを同系ラット背部筋膜下に移植し異所性骨形成を観察した. 移植後4週間で, すべての気孔内に豊富な骨形成を観察することができた (図6)⁸⁾. この自己骨髓幹細胞培養技術による培養骨を用いた骨関節疾患の治

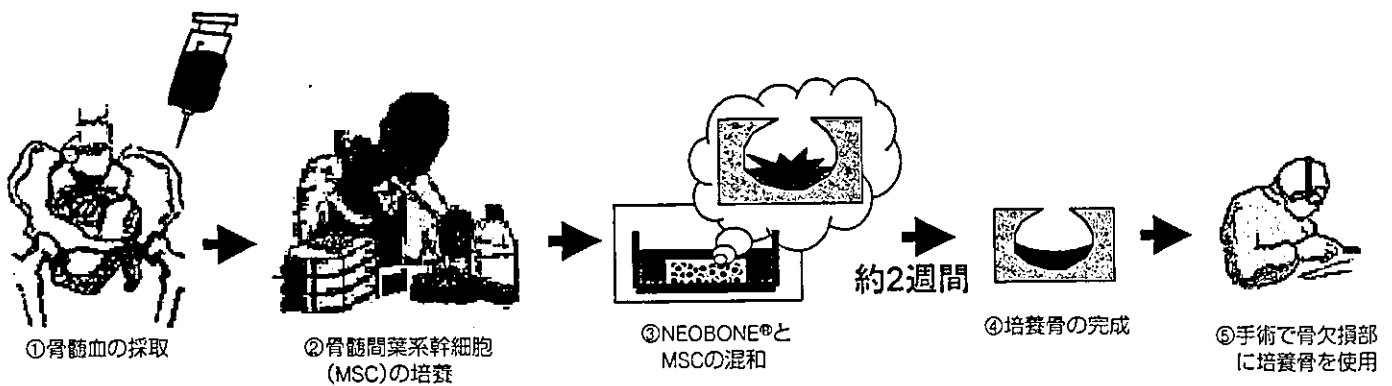


図7 自己骨髄培養幹細胞による骨関節疾患の治療計画

療を大阪大学医学部附属病院，未来医療センターの臨床研究プロジェクトとして現在計画之中である(図7)。この培養骨の技術が確立されれば，これまで自家骨移植が標準である整形外科疾患を，侵襲的で合併症の多い自家骨採取をおこなわずに培養骨のみで治療できると考えられる。

おわりに

今回高度骨欠損に対する骨補填材として，“気泡ゲル化技術”という三次元構造を制御する新たな手法を用いた新生代HA多孔体NEOBONE®を紹介した。NEOBONE®は従来のHA多孔体とくらべ①全気孔が細胞や組織が無理なく通過しうる大口径の気孔間連通孔で連結している，②高い気孔率であるが気孔隔壁の構造は緻密体HAと同様の構造をもつため臨床使用に十分耐える強度を有する，などという点で非常にすぐれた特性をもつ。動物実験でも早期より深部気孔内への骨伝導能が証明されたが，臨床使用においてもX線評価にて同様のすぐれた骨伝導能を示した。組織工学的アプローチとして，自己骨髄培養幹細胞を用いた培養骨技術を紹介したが，今後その連通気孔構造を生かして骨形成蛋白因子 (bone macrogenetic protein : BMP) や血管内皮細胞増殖因子 (vascular endothelial growth factor : VEGF) などの分化・増殖因子や骨形成性細胞を気孔内に導入した生体活性型人工骨が臨床応用されれば，これまで困難であった難治性骨関節疾患の治療に貢献できることを期待する。



文 献

- 1) Ayers RA, Simske SJ, Nunes CR *et al* : Long-term bone ingrowth and residual microhardness of porous block hydroxyapatite implants in humans. *J Oral Maxillofac Surg* 56 : 1297-1301, 1998
- 2) 日比教夫, 石川忠也, 浅野昌育ほか : 良性骨腫瘍に対するハイドロキシアパタイト充填後の成績不良例についての検討. *整形外科* 45 : 1423-1428, 1994
- 3) Tamai N, Myoui A, Tomita T *et al* : Novel hydroxyapatite ceramics with an interconnective porous structure exhibit superior osteoconduction *in vivo*. *J Biomed Mater Res* 59 : 110-117, 2002
- 4) 名井 陽, 古野雅彦, 荒木信人ほか : 連通気孔を有する新規ハイドロキシアパタイトセラミックスの優れた骨伝導能. *臨床整形外科* 36 : 1381-1388, 2001
- 5) 望月一男, 石井良章, 佐々木茂 : 骨欠損に対するハイドロキシアパタイト単独補填術の治療成績. *整形外科* 48 : 1043-1051, 1997
- 6) Maniopoulos C, Sdek J, Melcher AH : Bone formation *in vitro* by stromal cells obtained from bone marrow of young adult rats. *Cell Tissue Res* 254 : 317-330, 1988
- 7) Yoshikawa T, Ohgushi H, Akahane M *et al* : Analysis of gene expression in osteogenic cultured marrow/hydroxyapatite construct implanted at ectopic sites : A comparison with the osteogenic ability of cancellous bone. *J Biomed Mater Res* 41 : 568-573, 1998
- 8) 玉井宣行, 西川昌孝, 名井 陽ほか : 新規人工骨の開発と骨組織の tissue engineering の試み. *関節外科* 21 : 1272-1278, 2002

NF κ B デコイを用いた変形性関節症の治療

橋本 英雄* 富田 哲也 梶座 康夫
吉川 秀樹 森下 竜一**

はじめに

私たち整形外科医は日常から多くの変形性膝関節症の患者を診察しているが、その保存的治療は非ステロイド性消炎鎮痛剤の内服とヒアルロン酸製剤の関節内注射が長年の間、変わらぬ主役を演じてきた。現在、変形性関節症(OA)の病態は、一次的には加齢による関節軟骨の変性の基に過度の力学的ストレスによる骨軟骨破壊が生じ、そこに滑膜炎に代表されるような二次的な炎症反応が加わり関節破壊が進行するものと考えられている。そこでOAの一次的な病因を先天性の遺伝的背景に求めようとする考えもあるが、その観点から新しい直接的な治療法を探り出すことは困難である。他方で、後者の二次的な炎症反応に注目しOAの進行を抑制しようとする新しい現実的な治療の試みが近年、多数報告されるようになった。なかでも Pelletier らのグループはイヌのACLを切離した実験的OAモデルに対して、代表的な炎症性サイトカインのひとつであるIL-1や軟骨細胞のアポトーシスを促進する一酸化窒素(NO)を標的にした治療に関する一連の報告で、関節破壊の進行を抑制することに成功している¹⁾。これらの事実からも、今後は関節リウマチ(RA)と同様にOAに対しても炎症性サイトカインの制御が、その治療戦略の中で重要な位置を占めることになるだろう。現在、われわれは「NF κ B デコイ」という核酸医薬を関節炎の治療に応用することを目標に研究を進めているので、その一部をここで紹介する。

NF κ B とデコイ(おとり型核酸医薬)

NF κ BとはIL-1, TNFなどの炎症性サイトカインの上流でその転写活性を調節する転写因子の一つであり、軟骨細胞、滑膜細胞、破骨細胞、浸潤した単核球など関節組織を構成する様々な細胞においてその存在が確認されている。NF κ Bは通常、その抑制因子であるI κ Bと結合した状態で核外の細胞質内に存在するが(図1A)、細胞外から特定の刺激によりI κ Bがリン酸化され遊離するとNF κ Bは活性

化され核内に移行する。そこでNF κ BはDNAの特定領域に結合し下流のIL-1やTNFの転写活性を誘導する(図1B)。

デコイとは「おとり」の意味で、今はインテリアの小物として使われている鳥の模型「デコイ」も元来は狩猟用に作られた「おとり」であった。「おとり型核酸医薬」ともいわれるデコイは標的とする転写因子と結合させることにより、その機能を抑制しようとするもので、既にMorishitaらは冠動脈血管拡張術後の再狭窄の予防に応用している²⁾。すなわちNF κ Bの結合領域の配列に似せた二重鎖の核酸(デコイ)を細胞内に導入しておけばNF κ BはDNAの特定領域に結合する前に「おとり」であるデコイに結合し、その下流にある炎症性サイトカインの転写を抑制することができる(図1C)。またNF κ Bデコイは20塩基対で構成される oligodeoxynucleotide であり、その細胞内への導入にはウイルスやリポソームなどのベクターを用いることなく単にnakedの状態関節内に注射するのみで可能である。われわれは、このシンプルな仕組みでNF κ Bを介する炎症作用を抑えOAの関節軟骨破壊を抑制することを試みた³⁾。

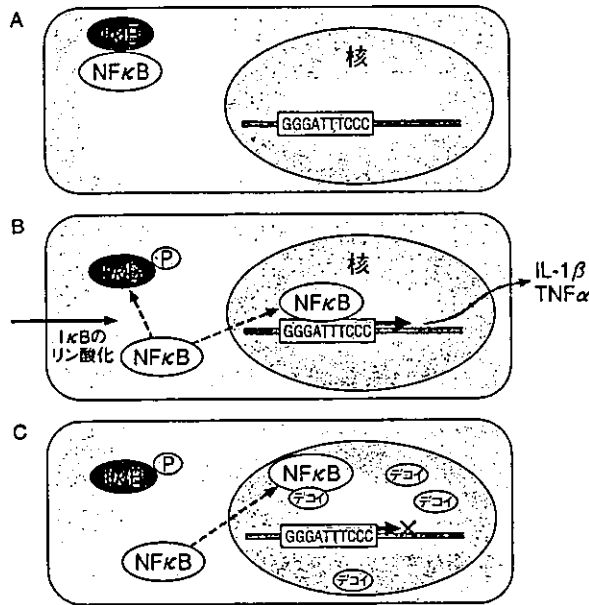
OAの動物モデルに対する関節軟骨破壊抑制効果

既に確立されている代表的なOAの動物モデルのひとつであるラットの膝前十字靭帯を切離したラット(雌 Fisher 12週齢)を用意した。まず関節内投与された核酸医薬が関節を構成するどの細胞内に導入されるかを確認するために、FITCで蛍光ラベルした500 μ gのNF κ Bデコイを関節内注射し2日後に関節内の組織を検討したところNF κ Bデコイは主に関節内滑膜細胞の核内へ導入されていた。次にラットのACL切離後1週間後から毎週8回連続で500 μ gのNF κ Bデコイを関節内注射したところ、対照として用意した同じ塩基構成ながら配列を任意に組み替えた20塩基対のscrambledデコイやPBSと比較すると組織学的所見でOAの進行が抑制されていた(図2)。同時に関節内の滑膜組織、軟骨組織を回収し重量あたりのIL-1 β やTNF α の産生もNF κ Bデコイによって抑制されていた(図3)。この結果から実験的OAの進行抑制機序は、関節内の滑膜細胞内に導入されたNF κ BデコイがOAの

* Hideo HASHIMOTO et al, 大阪大学大学院医学系研究科, 器官制御外科学

** Ryuichi MORISHITA, 大阪大学大学院医学系研究科, 臨床遺伝子治療学

図1 A NFκBは細胞質内にIκBと結合した状態でその機能が抑制されている。
 B 細胞外からの刺激によりリン酸化されたIκBはNFκBから遊離し抑制機構が解除され、核内に移行したNFκBはその結合領域に作用し炎症性サイトカインの転写活性を誘導する。
 C デコイ型核酸医薬は核内でNFκBと速やかに結合し、結合領域への作用を抑制する。



二次的な炎症反応を担う滑膜細胞のサイトカイン産生を抑制したため軟骨組織の変性が回避されたと考えられる。今後は関節組織の細胞内への導入効率をさらに向上するための工夫や、イヌなどの大型動物での検討が必要であろう。

将来の臨床応用に向けて

Tomitaらは既にRAの動物モデルであるラット・コラーゲン関節炎(CIA)の関節破壊をNFκBデコイを用いて抑制することに成功し⁴⁾, *in vitro*の実験系ではRA患者由来の滑膜細胞の炎症性サイトカイン産生を抑制することも示している⁵⁾。またサルのCIAでは関節炎の抑制とともにNFκBデコイの関節内注射による薬剤血中濃度の変動や他臓器への薬理作用も検討したが有害事象は認めなかった(Orthopaedic Research Meeting, 2003, New Orleansにて発表)。理論上もNFκBデコイはその作用機序が特異的かつ単純であるので、その副作用は限局された予想しやすいものであろう。また適切な濃度設定をすれば、細胞内への導入にウイルスなどのベクターを必要としないことも安全性への大きな利点である。

長年の間、非ステロイド性消炎鎮痛剤の内服とヒアルロン酸の関節内投与がOAに対する保存的治療

図2 ACL切離ラットに8回連続関節内注射を施行した関節軟骨組織像

A・C PBSを関節内注射した軟骨組織。軟骨表面のfibrillationとともに軟骨基質の変性も著明である。
 B・D NFκBデコイを関節内注射した軟骨組織。軟骨基質内のプロテオグリカン(サフラニンO染色で赤く染まる部位)が保たれている

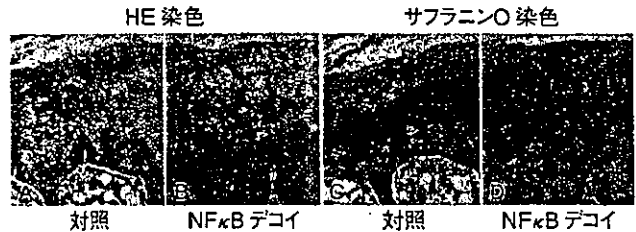
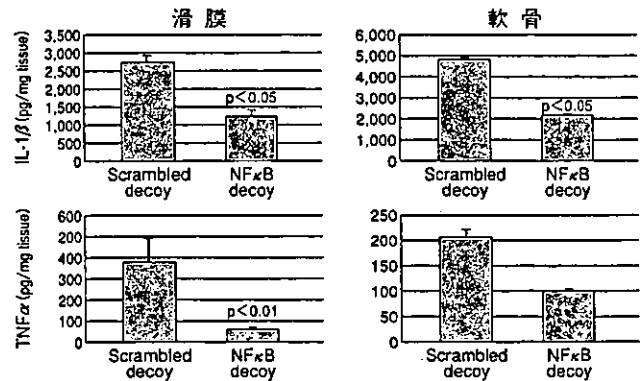


図3 ACL切離ラットの滑膜組織および軟骨組織中における炎症性サイトカインのタンパク量NFκBデコイが導入されていた滑膜組織ではIL-1βとTNFαの産生が抑制されていた。また軟骨組織においてもIL-1βの産生抑制が確認されている。



の柱とされてきたが、分子生物学の進歩により関節炎の病態が詳細に解析されるようになった今、NFκBデコイは新しい関節炎治療の有力な候補になるものと期待している。

文献

- 1) Pelletier JP et al : Osteoarthritis, an inflammatory disease ; potential implication for the selection of new therapeutic target. *Arthritis Rheum* 44 : 1237-1247, 2001
- 2) Morisita R et al : In vivo transfection of cis element "decoy" against nuclear factor-κB binding site prevents myocardial infarction. *Nat Med* 3 : 894-899, 1997
- 3) Hashimoto H et al : NFκB decoy oligodeoxynucleotides suppressed the progression of osteoarthritis in rat. *Arthritis Rheum* 48 : S630, 2003
- 4) Tomita T et al : Suppressed severity of collagen-induced arthritis by in vivo transfection of Nuclear Factor-κB decoy oligodeoxynucleotides as a gene therapy. *Arthritis Rheum* 42 : 2532-2542, 1999
- 5) Tomita T et al : Transcription factor decoy for NFκB inhibits cytokine and adhesion molecule expressions in synovial cells derived from rheumatoid arthritis. *Rheumatology* 39 : 749-757, 2000

関節炎による骨・関節破壊進行と p38 MAPK

西川 昌孝* 名井 陽 富田 哲也
高樋 康一郎 南平 昭豪 吉川 秀樹

はじめに

関節リウマチなどの慢性進行性多関節炎の骨・関節破壊には TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 などの炎症性サイトカインやこれらのサイトカインから誘導される蛋白分解酵素に加えて RANK ligand や TNF- α により誘導される破骨細胞による骨破壊も重要である¹⁾²⁾。p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) は TNF- α , IL-1 β や RANK ligand の共通の細胞内シグナル伝達分子であり³⁾、本稿では p38 MAPK 阻害剤による関節炎での骨関節破壊抑制効果および関節リウマチ治療への応用の可能性を検討する。

コラーゲン関節炎ラットにおける骨関節破壊抑制

コラーゲン関節炎(CIA)は多発性関節炎のモデルとして広く用いられており、多くの組織病理学的所見が関節リウマチと共通している。今回、p38 MAPK 選択的阻害剤である FR167653 をコラーゲン関節炎ラットに皮下投与し予防投与モデルと治療投与モデルという2つの異なる治療モデルで検討を行った。

予防投与モデルでは 32mg/kg の FR167653 をコラーゲン感作日から4週間連日皮下投与を行った。投与なしの CIA ラットでは21日目までに最大の足関節腫脹が生じ徐々に減少したが、阻害剤を投与したほとんどのラットでは足関節腫脹はみられなかった。CIA ラットの足関節の X 線検査では活発な関節炎や骨破壊を示す重度の骨吸収や骨びらんがみられた。組織学的には CIA ラットでは関節軟骨の消失と炎症性細胞の浸潤、TRAP 陽性破骨細胞数の増加がみられた(図1)。治療投与モデルでは関節炎発症後の21日目から同様に

阻害剤を4週間投与した。このモデルでも阻害剤は CIA ラットの足関節腫脹をほぼ正常レベルまで減少させる有意な効果を示した。投与群の X 線像、組織学的所見(図1)、TRAP 陽性破骨細胞数は CIA ラット群に比べて著しく改善していた。

炎症性サイトカイン産生および破骨細胞分化の抑制

予防投与群での血清および組織中のサイトカイン濃度を測定した。CIA ラットでは血清中 TNF- α , IL-1 β 濃度と足関節での骨軟部組織中の IL-1 β 濃度が上昇していた。しかし阻害剤の投与群ではいずれも著しく低値を示し炎症性サイトカイン産性が抑制されていた。

阻害剤による in vivo での破骨細胞数減少のメカニズムを明らかにするために soluble RANK ligand および TNF- α による in vitro での破骨細胞分化誘導実験を行った。Soluble RANK ligand による TRAP 陽性細胞形成は阻害剤により濃度依存的にほぼ完全に阻害された。またこの阻害剤は RANK ligand の選択的 decoy である OPG 存在下での TNF- α による TRAP 陽性細胞形成をも阻害した(図2)。これらのデータは FR167653 がおそらく破骨細胞前駆細胞に対する作用により破骨細胞形成を直接的に阻害することを示している。

骨髄リンパ球に対する影響

骨髄中での CD4 陽性 T 細胞の増加が関節リウマチや CIA の病因に関連している可能性が報告されているが、今回予防投与モデル骨髄細胞で FACS 解析を行った。CD4 陰性 CD8 陽性 T 細胞の割合が CIA で有意に増加しており、阻害剤投与群ではその割合はほぼ正常ラットと同レベルであった。

関節リウマチ治療へ展望

われわれは p38 MAPK 阻害剤である FR167653

* Masataka NISHIKAWA et al, 大阪大学大学院医学系研究科, 器官制御外科学整形外科

図1 ラット足関節組織像(H&E染色, ×40)

- A CIAラット
- B 予防投与モデル
- C 治療投与モデル
- D 正常ラット

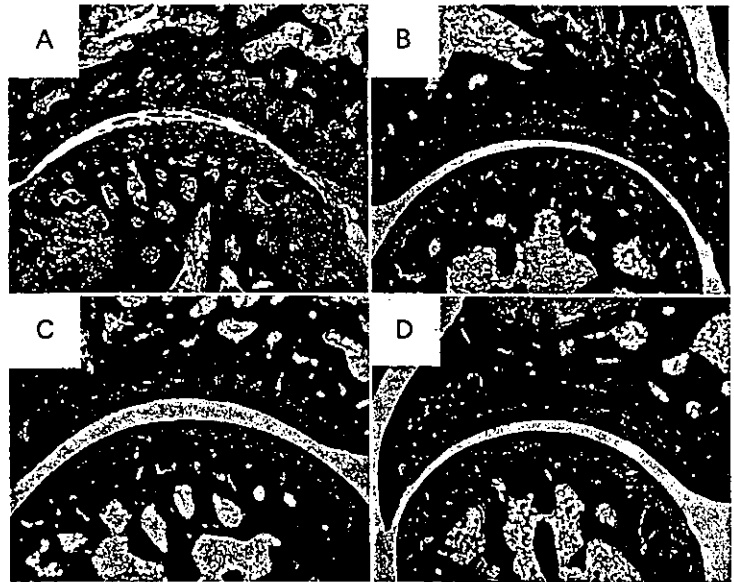
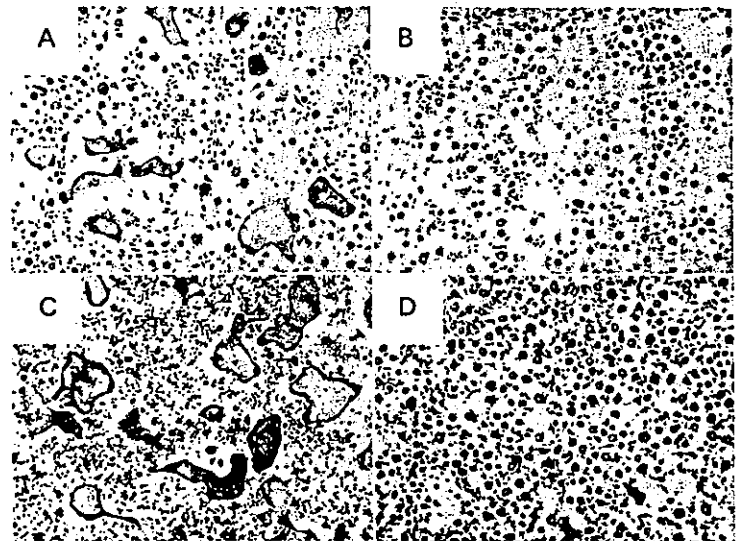


図2 破骨細胞分化誘導実験

TRAP陽性細胞形成はp38 MAPK阻害剤によりほぼ完全に阻害された。

- A M-CSF, soluble RANK ligand
- B M-CSF, soluble RANK ligand, $10^{-6}M$ FR167653
- C M-CSF, TNF- α , OPG
- D M-CSF, TNF- α , OPG, $10^{-6}M$ FR167653



がCIAの発症を完全に抑制し、また関節炎発症後でも著しく関節炎を改善し骨・関節破壊を抑制させることを初めて証明した。そのメカニズムは炎症性サイトカインの産生抑制およびその悪循環メカニズムの阻害による血清および組織中の炎症性サイトカイン濃度の減少、これに伴う間接作用および破骨細胞前駆細胞への直接作用による破骨細胞分化の抑制が考えられる。またCD4陰性CD8陽性T細胞がCIAの発症に何らかの役割を果たしており、FR167653の投与により局所骨髄へのCD4陰性CD8陽性T細胞の蓄積が阻害された可能性も考えられる。p38 MAPK阻害剤であるFR167653はCIAラットにおいて関節炎の発症

を阻害し関節破壊の進行を抑制した。これらの結果は、関節リウマチにおいてp38 MAPKが重要な治療ターゲットになりうる可能性を示している。

文 献

- 1) Kong YY et al : Activated T cells regulate bone loss and joint destruction in adjuvant arthritis through osteoprotegerin ligand. *Nature* 18 : 304-309, 1999
- 2) Romas E et al : Involvement of receptor activator of NF κ B ligand and tumor necrosis factor- α in bone destruction in rheumatoid arthritis. *Bone* 30 : 340-346, 2002
- 3) Suzuki M et al : The role of p38 mitogen-activated protein kinase in IL-6 and IL-8 production from the TNF- α - or IL-1 β -stimulated rheumatoid synovial fibroblast. *FEBS Lett* 465 : 23-27, 2000