

- 学的製剤時代の関節破壊と骨破壊制御」
5. 文京区医師会セミナー(2007.6.15)「骨質からみた骨粗鬆症治療薬の使い分け」
  6. 第8回印旛市郡整形外科医会研修会(2007.6.27)「骨粗鬆症治療 up-to-date」
  7. 小石川医師会学術講演会(2007.7.4)「骨粗鬆症治療薬の使い分け」
  8. 田中 栄、大熊千晶 厚生労働省難治性疾患研究事業 骨・関節系調査研究班 特発性大腿骨頭壊死症調査研究分科会平成19年度 第1回会議研究成果報告会(2007.7.7)京都「マウス骨壊死モデルの解析」
  9. 第1回秋田県骨粗鬆症フォーラム(2007.7.12)「骨粗鬆症治療 up-to-date」
  10. 日本内分泌学会サマーセミナー(2007.7.17)“Molecular biology of the skeletal development” Overview
  11. 第33回リウマチ中央教育研修会(2007.7.28)「関節リウマチの骨・軟骨破壊」
  12. エビスタ3周年記念講演会(2007.7.28)札幌「骨質からみた骨粗鬆症治療薬の使い分け」
  13. 第28回 日本炎症・再生医学会(2007.8.3)ワークショップ15「新規分子を標的とした炎症制御」
  14. 第2回 グルコサミン研究会研修会(2007.8.23)「軟骨分化の分子メカニズム」
  15. 川崎講演会(2007.9.7)「骨吸収抑制薬による新しい骨粗鬆症治療」
  16. Mucosta Symposium for Orthopedic Surgeons & Gastroenterologists(2007.9.8)「膝痛の診断と治療」
  17. フォサマック錠 35 mg 発売1周年記念講演会(2007.9.11)「骨粗鬆症の診断と治療のポイントー整形外科の立場からー」
  18. Bone & Joint Research Club～第4回骨と関節の代謝調節を考える基礎の会～(2007.9.29-30)かづさ 特別セッション:【神経と運動器】「ミエリン分化の分子メカニズム」
  19. 運動器疾患/骨・関節フォーラム(2007.10.20)高松「骨粗鬆症の診断と薬物治療の実際」
  20. 第22回 日本整形外科学会基礎学術集会(2007.10.25)浜松 シンポジウム2 骨免疫学「関節リウマチにおける骨破壊の機序」
  21. 秋田県臨床整形外科医会学術講演会(2007.10.25)秋田 特別講演I「骨質からみた骨粗鬆症治療薬の使い分け」
  22. 茨城県骨粗鬆症学術講演会(2007.10.30)水戸 特別講演「骨吸収抑制薬による新しい骨粗鬆症治療法」
  23. 長野県 SERM 講演会(2007.11.1)松本 特別講演「骨質からみた骨粗鬆症治療薬の使い分け」
  24. 平成19年度 リウマチ・アレルギー相談員養成研修会(2006.11.7)新宿「リウマチの外科治療・リハビリ」
  25. 第35回日本リウマチ・関節外科学会(2007.11.9)シンポジウム1 人工膝関節の機種選択と限界「コンピューターナビゲーションシステム関節リウマチ患者TKAにおける有用性とその問題点」
  26. SERM 学術講演会(2007.11.22)川越 特別講演「骨質からみた骨粗鬆症治療薬の使い分け」
  27. 第8回日本整形外科学会認定リウマチ医研修会(2007.11.25)東京「関節リウマチ骨破壊の制御」
  28. 第1回骨・軟骨フロンティア(2007.12.1)東京 一般演題3「骨軟骨における細胞死の制御」
- H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)
1. 特許取得  
なし
  2. 実用新案登録  
なし
  3. その他  
なし

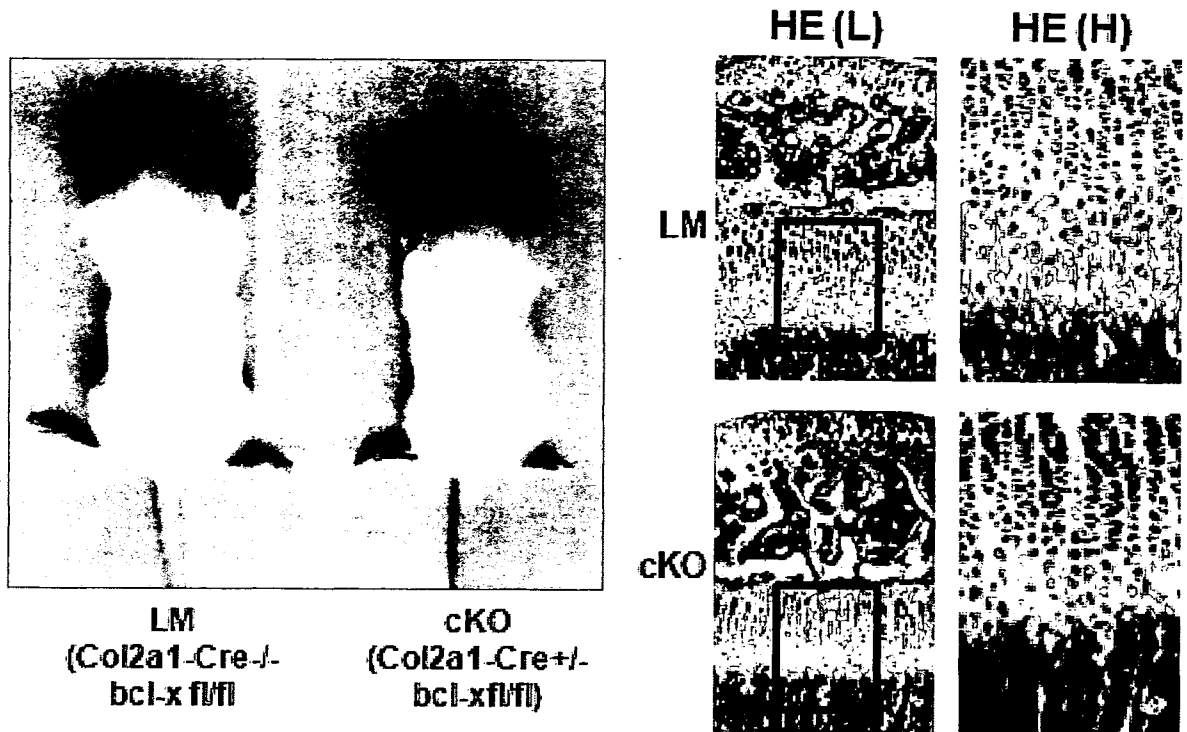


図1：軟骨細胞特異的bcl-x遺伝子ノックアウトマウスの作成。ノックアウトマウス（cKO）は同腹正常マウス（LM）に比して低体長を示し（左）、肥大層が短縮していた（右）。

## 筋骨格の痛みによる疾病負担の将来予測

分担研究者 吉田勝美 聖マリアンナ医科大学予防医学教室 教授

研究協力者 須賀万智 聖マリアンナ医科大学予防医学教室 講師

研究要旨：筋骨格の痛みによる疾病負担の将来予測として、腰、股関節、膝関節、手（指）の各部位の痛みについて、日本の成人における推計有訴者数と推計損失 QALY（Quality adjusted life year）を 2005 年から 2055 年まで計算した。推計有訴者数と推計損失 QALY は人口の高齢化の影響で 2025 年頃まで増加するが、その後、人口減少にともない減少すると予測された。しかし、対人口値で見ると、いずれも一貫して増加する傾向をみとめ、推計損失 QALY（人口 10 万対）は 2005 年から 2055 年までの間に、腰の痛みで 1.02 倍、股関節で 1.10 倍、膝関節で 1.15 倍、手（指）で 1.15 倍になると予測された。

### A. 研究目的

筋骨格疾患が日本の成人にあたる影響（疾病負担）を評価するため、筋骨格の痛みに関する質問票調査を実施した。2003 年の第 1 回調査では、健診受診者約 3000 人を対象に、筋骨格の痛みの有無をしらべ、日本の成人の約 4 割が筋骨格の痛みを訴えていることを報告した[1,2]。2005 年の第 2 回調査では、健診受診者約 5000 人を対象に、筋骨格の痛みの有無と日本語版 EuroQol (EQ-5D) による包括的 QOL の関係をしらべ、Quality adjusted life year (QALY) の推計結果をもとに、筋骨格の痛みが日本の成人の QOL を著しく大きく損ねていることを報告した[4]。

今年度は、筋骨格の痛みによる疾病負担の将来予測として、昨年度に引き続き、有訴者率が最も高い「腰」、変形性関節症で障害されやすい「股関節」「膝関節」、関節リウマチで障害されやすい「手（指）」の 4 部位を取り上げ、2005 年の第 2 回調査のデータをもとに、日本の成人における推計有訴者数と推計損失 QALY を 2005 年から 2055 年まで計算した。

### B. 研究方法

- 質問票調査  
新潟市（新潟県）、つくば市（茨城県）、さい

たま市（埼玉県）、浜松市（静岡県）、福岡市（福岡県）の各健診施設において、2005 年 9～10 月、健診受診者（1 施設あたり 1000 名）を対象に、筋骨格の痛みに関する質問票調査を実施した。調査事項は以下のとおりである。

#### ①本人の属性

性、年齢、身長、体重、普段の生活の姿勢（座り仕事、立ち仕事、肉体労働）、利き手

#### ②筋骨格の痛み

関節を中心にした全身 29 領域の筋骨格の痛み（最近 1 ヶ月のうち 1 週間以上継続するもの）の有無とそれによる仕事や日常生活の支障の有無

#### ③QOL

日本語版 EuroQol (EQ-5D) [4]

なお、調査の実施にあたり、聖マリアンナ医科大学生命倫理委員会の承認を受けた。

#### ● 結果の集計

質問票を回収した 5652 名のうち必要な情報をもれなく回答した 30～69 歳の男女 4933 名を対象に、腰、股関節、膝関節、手（指）の 4 部位について、筋骨格の痛みの有訴者率を性・10 歳年齢階級別に計算した。さらに、筋骨格の痛みの訴えない 2638 名を対照（コントロール）として、各部位の痛みの有訴者とコントロールの EuroQol スコア（EQ-5D から算出した

## 厚生労働科学研究補助金 分担研究報告書

包括的 QOL 定量値)の差を性別に計算した。

### ● 日本の成人における推計

質問票調査からえた各部位の痛みの有訴者率を将来推計人口[5]にかけあわせ、日本の成人(30歳以上)における推計有訴者数を2005年から2055年まで計算した。このとき、70歳以上の有訴者数は対象集団の60~69歳の有訴者率から推計した。さらに、質問票調査からえた各部位の痛みの有訴者とコントロールのEuroQolスコアの差を推計有訴者数にかけあわせ、日本の成人(30歳以上)における推計損失 QALY を2005年から2055年まで計算した。

### C. 研究結果

表1は質問票調査からえた各部位の痛みの有訴者率である。腰の痛みの有訴者率は2割以上であり、性差および年齢差をみとめなかった。股関節、膝関節、手(指)の痛みの有訴者率はいずれも1割未満であり、女性で有意に高かった。また、年齢に依存し増加する傾向をみとめ、男女とも膝関節と手(指)で有意差を示した。

表2は日本の成人における各部位の痛みの推計有訴者数である。2005年時点において、腰の痛みは男性948万人、女性1034万人、股関節の痛みは男性83万人、女性200万人、膝関節の痛みは男性289万人、女性510万人、手(指)の痛みは男性79万人、女性258万人にあると推計された。各部位の痛みの推計有訴者数は人口の高齢化の影響で2025年頃まで増加するが、その後、人口減少にともない減少すると予測された。

表3は日本の成人における各部位の痛みの推計有訴者数と推計損失 QALY である。2005年時点において、腰の痛みは推計有訴者数1982万人、推計損失 QALY 140万年、股関節の痛みは有訴者数283万人、推計損失 QALY 29万年、膝関節の痛みは有訴者数799万人、推計損失 QALY 68万年、手(指)の痛みは有訴者数337万人、推計損失 QALY 25万年になると推計された。各部位の痛みの推計有訴者数と推計損失 QALY は人口の高齢化の影響で2025年頃まで増加するが、その

後、人口減少にともない減少すると予測された。しかし、対人口値で見ると、いずれも一貫して増加する傾向をみとめ、推計損失 QALY (人口10万対)は2005年から2055年までの間に、腰の痛みで1.02倍、股関節で1.10倍、膝関節で1.15倍、手(指)で1.15倍になると予測された。

### D. 考察

筋骨格の痛みによる疾病負担の将来予測として、腰、股関節、膝関節、手(指)の各部位の痛みについて、日本の成人における推計有訴者数と推計損失 QALY を2005年から2055年まで計算した。

表2と表3に示した推計結果は、推計の方法の問題で、各部位の痛みの有訴者率を健診受診者(健常者を多く含む選択バイアスを否定できない)から集計したこと、70歳以上の有訴者数を対象集団の60~69歳の有訴者率から推計したことなどから、実際より過小評価された可能性がある。それにも係らず、疾病負担を表わす推計損失 QALY は著しく大きく、筋骨格の痛みが日本の成人に甚大な負担を課していることが明らかにされた。1QALYを回復するために投資しうる費用(willing to pay)は、日本人の評価値で、100万円であったと報告されている[6]。この数値をあてはめると、たとえば、腰の痛みによる推計損失 QALY を現状(2005年)より1割減らすことは1500億円を投資するに値する。

筋骨格の痛みによる疾病負担は、対人口値で見ると、今後さらに増加すると予測された。筋骨格疾患は、日本の成人のQOLを向上して健康寿命を確保するために、最優先課題のひとつにあつかうべきで、筋骨格の痛みに対する積極的対策を国家レベルで展開する必要がある。

### E. 結論

筋骨格の痛みによる推計損失 QALY は著しく大きく、筋骨格の痛みが日本の成人に甚大な負担を課していることが明らかにされた。筋骨格の痛みによる疾病負担は、対人口値で見ると、今後さらに増加すると予測された。

厚生労働科学研究補助金  
分担研究報告書

謝辞

調査実施協力施設は以下のとおりである。

1. 社団法人 新潟県健康管理協会
2. 財団法人 筑波メディカルセンター つくば総合健診センター
3. 医療法人財団 新生会 大宮共立病院総合健診プログラム
4. 社会福祉法人 聖隷福祉事業団 聖隷健康診断センター
5. 医療法人財団 博愛会 人間ドックセンターウェルネス笹岡

参考文献

- [1] Suka M, Yoshida K. Musculoskeletal pain in Japan: prevalence and interference with daily activities. *Modern Rheumatology* 2005; 15: 41-47.
- [2] Suka M, Yoshida K. Burden of musculoskeletal pain in Japan. *Modern Rheumatology* 2005; 15: 48-51.

[3] 厚生科学研究費補助金 疾病・障害対策研究分野 免疫アレルギー疾患予防・治療研究「関節リウマチ及び線維筋痛症の寛解導入を目的とした新規医薬品の導入・開発及び評価に関する包括的研究(主任研究者 西岡久寿樹)」平成 18 年度報告書。

[4] 池上直己, 福原俊一, 下妻晃二郎, 池田俊也 編. 臨床のための QOL 評価ハンドブック. 東京:医学書院, 2001 年.

[5] 国立社会保障・人口問題研究所. 将来推計人口データベース

<http://www.ipss.go.jp/syoushika/tohkei/Mainmenu.asp>

[6] 大日康史. QALY あたりの社会負担の上限に関する調査研究. *医療と社会* 2003; 13: 121-129.

表 1 筋骨格の痛みの有訴者率(筋骨格に関する質問票調査、2005 年)

		腰の痛み		股関節の痛み		膝関節の痛み		手(指)の痛み	
男性	全体	3048	686 ( 22.5%)	60 ( 2.0%)	195 ( 6.4%)	74 ( 2.4%)			
	年齢								
	30-39	519	105 ( 20.2%)	6 ( 1.2%)	23 ( 4.4%)	5 ( 1.0%)			
	40-49	1118	259 ( 23.2%)	24 ( 2.1%)	64 ( 5.7%)	24 ( 2.1%)			
	50-59	1083	244 ( 22.5%)	22 ( 2.0%)	79 ( 7.3%)	35 ( 3.2%)			
	60-69	328	78 ( 23.8%)	8 ( 2.4%)	29 ( 8.8%)	10 ( 3.0%)			
女性	全体	1885	421 ( 22.3%)	69 ( 3.7%)	163 ( 8.6%)	90 ( 4.8%)			
	年齢								
	30-39	403	81 ( 20.1%)	11 ( 2.7%)	21 ( 5.2%)	7 ( 1.7%)			
	40-49	707	157 ( 22.2%)	21 ( 3.0%)	46 ( 6.5%)	31 ( 4.4%)			
	50-59	577	137 ( 23.7%)	26 ( 4.5%)	65 ( 11.3%)	37 ( 6.4%)			
	60-69	198	46 ( 23.2%)	11 ( 5.6%)	31 ( 15.7%)	15 ( 7.6%)			

厚生労働科学研究補助金  
分担研究報告書

表2 筋骨格の痛みの有訴者数の将来予測(2005～2055年)

			2005年	2015年	2025年	2035年	2045年	2055年
腰の痛み	男性	全体	9476.3	9908.5	9738.7	9291.5	8576.0	7737.5
		年齢						
		30-39	1895.6	1610.1	1342.9	1239.1	1011.4	847.0
		40-49	1849.3	2134.4	1814.2	1514.3	1398.0	1141.4
		50-59	2138.4	1721.7	1995.8	1699.4	1421.3	1314.2
		60-69	1841.2	2073.0	1684.8	1965.9	1678.1	1408.5
	70+	1751.9	2369.3	2901.0	2872.9	3067.1	3026.4	
	女性	全体	10342.5	10881.7	10852.7	10442.7	9667.6	8775.0
		年齢						
		30-39	1846.0	1553.1	1280.8	1190.1	971.6	816.1
		40-49	1753.1	2030.2	1709.6	1411.0	1311.6	1071.4
		50-59	2279.5	1842.7	2138.0	1801.4	1488.1	1384.3
60-69		1926.1	2158.1	1750.7	2036.3	1717.3	1420.3	
70+	2537.8	3297.6	3973.7	4003.9	4179.0	4083.0		
股関節の痛み	男性	全体	832.4	889.9	883.8	849.7	791.5	717.7
		年齢						
		30-39	112.6	95.7	79.8	73.6	60.1	50.3
		40-49	167.4	193.2	164.2	137.1	126.5	103.3
		50-59	190.1	153.0	177.4	151.1	126.3	116.8
		60-69	185.7	209.0	169.9	198.2	169.2	142.0
	70+	176.7	238.9	292.5	289.7	309.3	305.2	
	女性	全体	1995.2	2149.8	2190.8	2150.6	2013.6	1845.6
		年齢						
		30-39	248.0	208.6	172.0	159.9	130.5	109.6
		40-49	236.9	274.4	231.0	190.7	177.2	144.8
		50-59	432.8	349.9	405.9	342.0	282.6	262.8
60-69		464.9	520.9	422.6	491.5	414.5	342.8	
70+	612.6	796.0	959.2	966.4	1008.7	985.5		
膝関節の痛み	男性	全体	2889.6	3076.2	3081.3	2982.4	2779.5	2531.1
		年齢						
		30-39	412.9	350.7	292.5	269.9	220.3	184.5
		40-49	454.3	524.4	445.7	372.0	343.5	280.4
		50-59	693.8	558.6	647.5	551.4	461.1	426.4
		60-69	680.8	766.5	623.0	726.9	620.5	520.8
	70+	647.8	876.0	1072.6	1062.2	1134.1	1119.0	
	女性	全体	5098.5	5566.8	5725.1	5667.4	5335.1	4909.0
		年齢						
		30-39	477.6	401.8	331.3	307.9	251.4	211.1
		40-49	513.3	594.4	500.6	413.1	384.0	313.7
		50-59	1086.8	878.6	1019.4	858.9	709.5	660.0
60-69		1303.4	1460.4	1184.7	1378.0	1162.1	961.2	
70+	1717.4	2231.6	2689.1	2709.5	2828.0	2763.0		
手(指)の痛み	男性	全体	786.2	816.4	880.2	802.2	765.4	713.6
		年齢						
		30-39	93.8	79.7	66.5	61.3	50.1	41.9
		40-49	167.4	193.2	164.2	137.1	126.5	103.3
		50-59	304.1	244.9	283.8	241.7	202.1	186.9
		60-69	220.8	298.7	365.7	362.1	386.6	381.5
	70+	1378.2	1444.9	1433.0	1377.4	1273.1	1153.4	
	女性	全体	2581.5	2818.6	2899.7	2845.4	2675.5	2458.0
		年齢						
		30-39	156.1	131.4	108.3	100.7	82.2	69.0
		40-49	347.5	402.4	338.8	279.7	260.0	212.3
		50-59	615.6	497.6	577.3	486.5	401.9	373.8
60-69		631.0	707.0	573.5	667.1	562.6	465.3	
70+	831.4	1080.3	1301.7	1311.6	1369.0	1337.5		

有訴者数:千人

注)70+歳の有訴者数は対象集団の60-69歳の有訴者率から推計した

厚生労働科学研究補助金  
分担研究報告書

表 3 筋骨格の痛みによる疾病負担の将来予測(2005～2055年)

		2005年	2015年	2025年	2035年	2045年	2055年
腰の痛み	推計有訴者数	19818.8	20790.2	20591.4	19734.2	18243.6	16512.6
	人口千対	225.5	226.8	227.8	228.3	228.8	229.2
	推計損失QALY	1396.0	1465.0	1452.5	1392.9	1288.0	1166.3
	人口10万対	1.59	1.60	1.61	1.61	1.62	1.62
股関節の痛み	推計有訴者数	2827.6	3039.6	3074.6	3000.2	2805.0	2563.3
	人口千対	32.2	33.2	34.0	34.7	35.2	35.6
	推計損失QALY	291.1	312.9	316.3	308.5	288.4	263.5
	人口10万対	0.33	0.34	0.35	0.36	0.36	0.37
膝関節の痛み	推計有訴者数	7988.1	8643.1	8806.4	8649.9	8114.5	7440.2
	人口千対	90.9	94.3	97.4	100.0	101.8	103.3
	推計損失QALY	683.2	741.3	757.4	745.7	700.3	642.8
	人口10万対	0.78	0.81	0.84	0.86	0.88	0.89
手(指)の痛み	推計有訴者数	3367.7	3635.0	3779.9	3647.7	3440.9	3171.6
	人口千対	38.3	39.7	41.8	42.2	43.2	44.0
	推計損失QALY	251.5	270.8	282.2	271.4	256.2	236.3
	人口10万対	0.29	0.30	0.31	0.31	0.32	0.33

有訴者数:千人、QALY:千年

注) 対人口値は30歳以上の推計人口から計算した

F.研究発表

1.論文発表

Suka M, Yoshida K. Low back pain deprives the Japanese adult population of their quality of life: a questionnaire survey at five healthcare facilities in Japan. Environ Health Prev Med 2008 (印刷中)

2.学会発表

なし

G.知的所有権の取得など

1.特許許可

2.実用新案登録

3.その他

新規抗リウマチ剤の臨床薬理学的評価に関する研究

分担研究者 川合眞一 東邦大学医学部内科学講座（大森）膠原病科教授

研究要旨：近年、脂肪組織は単なるエネルギー蓄積という機能のみならず、アディポカインあるいはアディポサイトカインと呼ばれる生理活性物質を分泌するホルモン臓器として機能していることが明らかとなった。我々は、血中に最も多く存在するadiponectinに注目し、関節リウマチ(RA)患者滑膜細胞に及ぼす作用を調べた。まず、滑膜細胞にはadiponectin受容体のサブタイプであるAdipoR1とAdipoR2のmRNAが存在した。ヒト滑膜細胞に血清濃度の範囲でadiponectinを作用させたところ、培養上清中のインターロイキン(IL)-8濃度が増加した。また、同刺激により得られた培養上清は、ヒト好中球遊走能を有していた。これらの作用にはNF- $\kappa$ B活性化およびMAPK経路の関与が示唆された。なお、他のアディポカインであるleptinおよびresistinにはこれらの作用はなかった。以上の成績から、adiponectinなどの一部のアディポカインはRAの炎症病態形成に働いており、新たな抗リウマチ薬開発に向けた標的分子候補となる可能性が示唆された。

A. 研究目的

近年、脂肪組織は単なるエネルギー蓄積という機能のみならず、アディポカインあるいはアディポサイトカインと呼ばれる生理活性物質を分泌するホルモン臓器として機能していることが明らかとなった。我々は、血中に最も多く存在するアディポカインであるadiponectinに注目し、ヒト滑膜細胞に及ぼす作用を調べ、関節リウマチ (RA) 患者に対する新規治療薬の標的分子候補としての可能性を検討した。

B. 研究方法

関節置換術などの手術時における残余組織の研究利用に同意したRA患者から、滑膜組織を得た。滑膜組織を処理して得られた滑膜細胞におけるadiponectin受容体の存在は、RT-PCRによって確認した。次に、この滑膜細胞の培養系にヒト血清濃度の範囲でadiponectinを作用させ、培養上清中のインターロイキン(IL)-8濃度をELISAキットにて測定した。また、培養上清中の生物活性はヒト好中球に対する遊走能で検討した。その作用機序に関してさらに検討した。

(倫理面への配慮)

本研究計画は東邦大学医学部倫理委員会において既に承認を得ている (No.19021)。また、滑膜細胞に関しては、本研究の目的に関して十分な説明の後に、組織の研究利用に同意した患者の手術時に得られた関節組織の中で、検査な

どに使用する部分を除いた残余組織のみを研究に用いた。

C. 研究結果

ヒト滑膜細胞にはadiponectin受容体のサブタイプであるAdipoR1とAdipoR2のmRNAが共に存在した。滑膜細胞培養系にadiponectinを添加したところ、滑膜細胞のIL-8のmRNAおよび培養上清中のIL-8濃度が用量依存性に増加していた。また、この培養上清はヒト好中球の遊走活性を有していた。このIL-8産生増加の作用機序を検討したところ、NF- $\kappa$ B活性化およびMAPK経路の関与が示唆された。なお、他のアディポカインとして検討したleptinおよびresistinにはこの作用はなかった。

D. 考察

今回の検討で、adiponectinにはヒト滑膜細胞に対してIL-8産生を増加させる作用が認められた。RA患者には、増殖した滑膜組織に加えて、その近傍に多くの脂肪組織が存在することが観察される。すなわち、脂肪組織がRAの病態形成に、直接何らかの関与をしていることが想定される。我々は、RA患者における血清adiponectin濃度は、健常人よりも高いことを示唆する予備的成績を得ている。一方で、RA患者における血清高分子adiponectin濃度は、生物学的製剤による治療によりさらに増加するとの報告もあり、



血清濃度の調節には他の要因の関与も想定される。

いずれにしても、今回の成績はadiponectinが滑膜細胞に対して直接IL-8産生を増加させる作用があることを明らかにした。RAに対しては、既にIL-1、IL-6、TNF $\alpha$ といった炎症性サイトカインを標的分子とした治療法が確立しているが、adiponectinがRA治療の新たな標的分子になる可能性が考えられた。

#### E. 結論

アディポカインであるadiponectinは、ヒト滑膜細胞のIL-8産生を増加させた。抗リウマチ薬の新規標的分子として、今後、臨床薬理的に検討を進めたい。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Tsuboi H, Nampei A, Matsui Y, Hashimoto J, Kawai S, Ochi T, Yoshikawa H. Celecoxib prevents juxta-articular osteopenia and growth plate destruction adjacent to inflamed joints in rats with collagen-induced arthritis. *Mod Rheumatol*. 2007; 17:115-122.
- 2) Kitahara K, Kawai S. Cyclosporine and tacrolimus for the treatment of rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol*. 2007; 19:238-245.
- 3) Nishimoto N, Hashimoto J, Miyasaka N, Yamamoto K, Kawai S, Takeuchi T, Murata N, van der Heijde D, Kishimoto T. Study of active controlled monotherapy used for rheumatoid arthritis, an IL-6 inhibitor (SAMURAI): Evidence of clinical and radiographic benefit from an X-Ray reader-blinded randomized controlled trial of tocilizumab. *Ann Rheum Dis*. 2007;66:1162-1167.
- 4) Kitahara K, Takagi K, Kusunoki Y, Nishio S, Nozaki T, Inomata H, Takei M, Sawada S, Kawai S. Clinical value of second and third generation assays of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. (in press)
- 5) Kawai S, Tanaka K, Ohno I, Utsunomiya K, Seino Y. Safety of long-term tacrolimus therapy for rheumatoid arthritis: an open-label uncontrolled study in non-elderly patients. *Mod Rheumatol* (in press)

##### 2. 学会発表

- 1) 川合眞一「ループス腎炎の薬物療法：現状と将来展望」第51回日本リウマチ学会総会
- 2) 川合眞一, 澤田滋正「RA診断における抗CCP抗体の意義：第3世代測定法は有用化か？」第51回日本リウマチ学会総会
- 3) 吉野 匠, 松本菜穂子, 金子開知, 山本竜大, 秋元貴美子, 西尾信一郎, 楠 芳恵, 高木賢治, 川合眞一「関節リウマチ患者における血清adipocytokineの意義」第51回日本リウマチ学会総会
- 4) 橋本 淳, Garnero Patrick, 宮坂信之, 山本一彦, 川合眞一, 竹内 勤, 村田紀和, 吉川秀樹, 西本憲弘「関節リウマチ治療においてヒト化抗IL-6レセプター抗体(トシリズマブ)投与1年時の関節破壊抑制効果は治療開始後早期の炎症及び軟骨代謝マーカーの変化により予測できる」第51回日本リウマチ学会総会
- 5) 西本憲弘, 山本一彦, 川合眞一, 竹内 勤, 宮坂信之「関節リウマチ患者を対象としたトシリズマブの3種類の無作為割付群間比較試験のメタアナリシス」第51回日本リウマチ学会総会
- 6) 楠 芳恵, 秋元貴美子, 吉野 匠, 西尾信一郎, 松本菜穂子, 金子開知, 山本竜大, 高木賢治, 川合眞一「「関節リウマチ以外のリウマチ性疾患に対するタクロリムスの有用性」第51回日本リウマチ学会総会
- 7) 高木賢治, 楠 芳恵, 西尾信一郎, 秋元貴美子, 吉野 匠, 金子開知, 松本菜穂子, 山本竜大, 川合眞一「ボセンタンが著効し、1年間経過良好な肺高血圧症合併強皮症の一例」第51回日本リウマチ学会総会
- 8) 西尾信一郎, 楠 芳恵, 松本菜穂子, 金子開知, 山本竜大, 秋元貴美子, 吉野 匠, 高木賢治, 川合眞一「関節リウマチ患者におけるインフレイシマブの血中濃度の検討」第51回日本リウマチ学会総会
- 9) 金子開知, 西尾信一郎, 松本菜穂子, 山本竜大, 秋元貴美子, 吉野 匠, 楠 芳恵, 高木賢治, 川合眞一「エタネルセプト投与後に増悪した成人Still病の1例」第51回日本リウマチ学会総会
- 10) 川合眞一「関節リウマチの新しい薬物療法—生物学的製剤」第51回日本リウマチ学会総会
- 11) 秋元貴美子, 楠 芳恵, 西尾信一郎, 松本菜穂子, 金子開知, 山本竜大, 高木賢治, 川合眞一「関節リウマチおよび全身性エリテマトーデスにおけるタクロリムスの有害反応に関する検討」第35回日本臨床免疫学会総会
- 12) 西尾信一郎, 高木賢治, 楠 芳恵, 松本菜穂子, 金子開知, 山本竜大, 秋元貴美子, 吉

- 野 匠, 徳山美香, 川合眞一「成人後に診断されたB細胞欠損型無 $\gamma$ グロブリン血症の一例」第35回日本臨床免疫学会総会
- 13) Kusunoki Y, Takagi K, Akimioto K, Nishio S, Matsumoto N, Kawai S “A pilot study on tacrolimus treatment in patients with systemic lupus erythematosus without renal involvement.” 71st. ACR Clinical Research Conference
- 14) Nishimoto N, Miyasaka N, Yamamoto K, Kawai S, Takeuchi T, Azuma J, Kishimoto T “Long-term safety and efficacy of tocilizumab (anti-IL-6 receptor monoclonal antibody) in monotherapy, in patients with rheumatoid arthritis..” 71st. ACR Annual Scientific Meeting
- 15) Kitahara K, Kusunoki N, Kakiuchi T, Suguro T, Kawai S “Adiponectin stimulates production of interleukin-8 from rheumatoid synovial fibroblasts.” 71st. ACR Annual Scientific Meeting
- 16) Kusunoki N, Kitahara K, Suguro T, Kawai S “Adiponectin induces cyclooxygenase-2 and membrane-associated prostaglandin E synthase-1 expressions in rheumatoid synovial fibroblasts.” 71st. ACR Annual Scientific Meeting
- 17) Kitahara K, Nishio S, Kusunki Y, Takagi K, Nozaki T, Inomata H, Takei M, Sawada S, Kawai S “The significance of the second and third generations of anti-cyclic citrullinated peptides antibodies among various serological tests for rheumatoid arthritis.” 71st. ACR Annual Scientific Meeting
- 18) Kusunoki Y, Takagi K, Akimioto K, Nishio S, Matsumoto N, Kawai S “A pilot study on tacrolimus treatment in patients with systemic lupus erythematosus without renal involvement.” 71st. ACR Annual Scientific Meeting
- 19) 川合眞一「関節リウマチの治療ガイドライン」第28日本臨床薬理学会年会
- 20) 西尾信一郎, 金子開知, 松本菜穂子, 山本竜大, 秋元貴美子, 吉野 匠, 楠 芳恵, 高木賢治, 川合眞一「関節リウマチ患者におけるエタネルセプト血清濃度と臨床効果の検討」第28日本臨床薬理学会年会
- 21) 金子開知, 西尾信一郎, 高木賢治, 楠 芳恵, 松本菜穂子, 山本竜大, 秋元貴美子, 吉野 匠, 北原加奈子, 川合眞一「非RA疾患における抗CCP抗体の検討」第22回日本臨床リウマチ学会
- 22) 松本菜穂子, 楠 芳恵, 金子開知, 山本竜大, 秋元貴美子, 吉野 匠, 西尾信一郎, 高木賢治, 川合眞一「ステロイド治療が奏功した肺高血圧症合併高安病の一例」第22回日本臨床リウマチ学会
- 23) 鏑木 誠, 楠 芳恵, 松本菜穂子, 西尾信一郎, 高木賢治, 川合眞一「Cyclophosphamideに加えてRituximabが奏功した難治性全身性エリテマトーデスの一例」第18回日本リウマチ学会関東支部学術集会
- H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)
1. 特になし
  2. 実用新案登録 特になし
  3. その他 特になし

新規抗リウマチ剤導入による破骨細胞制御メカニズムの分子レベルでの評価

分担研究者 高柳 広 東京医科歯科大学分子情報伝達学教授

**研究要旨** 抗リウマチ薬は、炎症や疼痛の改善において目覚ましい進歩を遂げたが、骨破壊による関節機能障害を効率よく防止することができない。このため、今なお多くの人工関節置換手術が施行されており、骨破壊の制御は関節リウマチの治療における最大の課題である。近年、関節リウマチ骨破壊の病態が次第に明らかになり、その病態に基づいて、生物学的製剤や新規抗リウマチ薬などの新しい治療薬が導入され、今後さらに先端的抗リウマチ薬の開発が計画されている。しかし、これらの新規リウマチ薬に関しても、骨破壊への作用を指標にして開発されたものではなく、骨破壊抑制効果やその作用機序は不明である。本研究においては、骨吸収細胞である破骨細胞等に注目した基礎的な検討を行い、抗リウマチ薬による骨破壊の予防法の確立に道を開いた。

A. 研究目的

関節リウマチ（RA）骨破壊においては、破骨細胞による骨吸収の亢進が重要な役割を果たす。近年、生物学的製剤や新しい抗リウマチ薬が導入されつつあるが、これらの新規抗リウマチ薬は免疫抑制や滑膜炎に重要な役割を果たすサイトカインを抑制する目的で開発されてきたため、骨破壊への作用を持つ場合であっても、その詳細な作用機序は明らかでない。そこで、骨破壊に直接関与する破骨細胞の分化や活性化に関わる分子機構を解明し、抗リウマチ薬がどのような分子機構で骨破壊を制御するのかを解明することで、効率よい骨破壊制御療法確立への科学的なエビデンスを構築することを目的とする。本年は、抗TNF- $\alpha$ 療法による骨破壊抑制機序の解明と新規カテプシンK阻害剤の開発を進めた。

B. 研究方法

TNF- $\alpha$ 抗体や阻害受容体を用いた生物学的製剤は、炎症を抑制して症状を緩和するだけでなく、骨破壊抑制する作用をもつことが注目を集めているが、その作用機序はよくわかっていない。そこで、TNF- $\alpha$ による破骨細胞前駆細胞への作用を調べ、TNF- $\alpha$ が破骨細胞前駆細胞に直接及ぼす作用を検討した。特に、破骨細胞分化の共刺激受容体と呼ばれる免疫グロブリン様受容体（OSCAR, PIR-A, TREM-2, SIRP- $\beta$ 1）発現への作用を培養細胞で解析した。また、関節炎を自然発症する TNF- $\alpha$ トランスジェニックマウスを用いて、TNF- $\alpha$ による破骨細胞分化促進作用を媒介する分子機構を検討した。

また、ラットの低カルシウム食モデルを用いて、破骨細胞による骨基質分解に関わる必須酵素の一つ、カテプシンKの阻害剤のスクリーニングを行い、新規のカテプシンK阻害剤の開発を行った。関節リウマチのモデルであるアジュバント関節炎への治療効

果を検討し、その作用標的細胞や作用機序を詳細に解析した。

C. 研究結果

TNF $\alpha$ で刺激した破骨細胞前駆細胞において免疫受容体発現の解析を行った結果、破骨細胞分化において必須である免疫グロブリン様受容体のうち、PIR-Aの発現が亢進していることが明らかとなった。またPIR-Aのリガンドのひとつとして知られているMHCクラスIの発現も亢進していることが明らかとなった。TNF- $\alpha$ による破骨細胞分化促進効果は、PIR-A-Fcによって強く抑制されたことから、TNF- $\alpha$ は破骨細胞前駆細胞におけるPIR-A経路の活性化を介して骨破壊を促進することが示唆された。これを生体レベルで検証するため、TNF- $\alpha$ トランスジェニックマウスをPIR-Aの機能しない遺伝子改変マウスと交配した。遺伝子改変マウスとしては、PIR-Aのアダプター分子であるFcR $\gamma$ ノックアウトマウスと、PIR-Aのリガンドと考えられているMHCクラスIの発現に必要な $\beta$ 2microglobulinノックアウトマウスを用いた。どちらにおいても、TNF- $\alpha$ トランスジェニックマウスに見られる破骨細胞増加が減少し、関節破壊も全身骨粗鬆症も改善していた。また、マウスへのTNF- $\alpha$ 抗体投与でも同様の結果が得られた。（Proc Natl Acad Sci USA 104:11394, 2007）

新規カテプシンK阻害剤NC-2300を同定し、培養破骨細胞の骨吸収活性に対する強い抑制効果を見いだした。この阻害剤はラットアジュバント関節炎の骨粗鬆化、骨びらんの両方に優れた治療効果を示した。さらに、驚くべき効果として、足趾の腫張が軽減し、ラットの活動性を著しく改善することがわかった。この作用標的を探索した結果、NC-2300は、T細胞やマクロファージには効果がないが、Toll様受容体9を介する樹状細胞の活性化に強い抑制効果

を示すことが明らかになった。NC-2300で処理した樹状細胞においては、IL-6、IL-12、IL-23などの炎症性サイトカインの産生が低下し、関節リウマチで骨破壊を引き起こす主要な原因となるTh17型のT細胞の誘導活性が著明に低下していた。以上より、カテプシンKは、単に破骨細胞の骨吸収に関与する酵素ではなく、自己免疫反応における炎症増悪に重要な役割を果たす樹状細胞の活性化にも関与することが明らかになった。(Science 319:624-627, 2008)

#### D. 考察

考察 TNF- $\alpha$ は破骨細胞前駆細胞に直接作用して免疫受容体PIR-Aとそのリガンドの発現亢進を介して、破骨細胞共刺激シグナル経路を活性化し、関節リウマチ患者における破骨細胞分化を関節局所だけでなく、全身で活性化させていることが明らかになった。抗TNF- $\alpha$ 抗体は、この破骨細胞共刺激シグナルの増強をブロックし、破骨細胞前駆細胞の破骨細胞へのなりやすさを減少させる。この作用によって、TNF- $\alpha$ 抗体は、炎症局所における骨破壊だけでなく、全身骨粗鬆症を制御できることがわかった。

カテプシンKが、樹状細胞に発現しToll様受容体9シグナルに深く重要な役割を果たしTh17細胞の誘導に関与することが明らかになり、カテプシンK阻害剤は自己免疫炎症と骨破壊細胞の両方を標的とした非常に理想的な関節リウマチの治療薬となることが解明された。本薬剤は、日本ケミファ社との共同研究により開発され、現在、アメリカのベンチャー企業に導出して臨床治験を開始する段階に至っており、その後日本でも臨床治験に向けて開発を進める予定である。

#### E. 結論

結論 抗TNF- $\alpha$ 療法による骨破壊抑制機構の新たなメカニズムが解明され、今後の効率よい骨破壊抑制戦略の分子基盤を提供した。カテプシンKの免疫作用を発見し、新規カテプシンK阻害剤を開発し、今後の新規関節リウマチ治療薬に道を開いた。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Shinohara, M., Koga, T., Okamoto, K., Sakaguchi, S., Arai, K., Yasuda, H., Takai, T., Kodama, T., Morio, T., Geha, R. S., Kitamura, D., Kurosaki, T., Ellmeier, W., and Takayanagi, H. Tyrosine kinases Btk and Tec regulate osteoclast differentiation by linking RANK and ITAM signals. **Cell** 132, 794-806(2008)

Asagiri, M., Hirai, T., Kunigami, T., Kamano, S., Gober, H.J., Okamoto, K., Nishikawa, K., Latz, E., Golenbock, D.T., Aoki, K., Ohya, K., Imai, Y., Morishita, Y., Miyazono, K., Kato, S., Saftig, P., Takayanagi, H. Cathepsin K-Dependent Toll-like Receptor 9 Signaling Revealed in Experimental Arthritis. **Science** 319, 624-627 (2008)

Nakamura, T., Imai, Y., Matsumoto T., Sato, S., Takeuchi, K., Igarashi, K., Harada, Y., Azuma, Y., Krust, A., Yamamoto, Y., Nishina, H., Takeda, S., Takayanagi, H., Metzger, D., Kanno, J., Takaoka, K., Martin, J.T., Chambon, P., Kato, S. Estrogen Prevents Bone Loss via Estrogen Receptor  $\alpha$  and Induction of Fas Ligand in Osteoclasts. **Cell** 130, 797-810 (2007)

Ochi, S., Shinohara, M., Sato, K., Gober H.J., Koga, T., Kodama, T., Takai T., Miyasaka N., Takayanagi H. Pathological role of osteoclast costimulation in arthritis-induced bone loss. **Proc Natl Acad Sci USA** 104, 11394-11399 (2007)

Takayanagi H. Novel signaling pathways and therapeutic targets in osteoclasts. **Osteoimmunology Interactions of the Immune and Skeletal Systems -Advances in Experimental Medicine and Biology** 602, 93-96 (2007)

Takayanagi H. The role of NFAT in osteoclast formation. **Skeletal Biology and Medicine, Part A. Aspects of Bone Morphogenesis and Remodeling.** Editor Mone Zaidi. **Annals of the New York Academy of Sciences** 1116:227-237 (2007)

Suematsu, A., Tajiri, Y., Nakashima, T., Taka, J., Ochi, S., Oda, H., Nakamura, K., Tanaka S., and Takayanagi H. Scientific basis for the efficacy of combined use of antirheumatic drugs against bone

destruction in rheumatoid arthritis.  
**Mod Rheumatol**, 17, 17-23 (2007)

Takayanagi, H. Interaction between the immune system and bone metabolism: an emerging field of osteoimmunology.  
**Proc Jpn Acad**, Ser B 83, 136-143 (2007)

Shinohara M, Takayanagi H. Novel osteoclast signaling mechanisms. **Curr Osteoporos Rep** 5, 67-72 (2007)

Takayanagi, H. Osteoimmunology - shared mechanisms and crosstalk between the bone and immune systems.  
**Nat Rev Immunol** 7, 292-304 (2007)

Asagiri, M., Takayanagi, H. The molecular understanding of osteoclast differentiation. **Bone** 40, 251-264 (2007)

高柳広：特集 骨と免疫 Overview (他に、特集内容の企画・編集)  
腎と骨代謝 21 (1) : 7-12 (2007)

佐藤浩二郎、高柳広：炎症と骨吸収：Th17細胞の役割  
The BONE 21(6):61(737)-65(741) (2007)

高柳広：骨免疫学と疾患  
免疫応答と免疫病態の統合的分子理解 (編者：谷口維紹、山本一彦 南光堂) p217-228 (2007)

高柳広：Osteoimmunologyの進歩  
Frontiers in Rheumatology & Clinical Immunology1 (1) :39-45 (2007)

中島友紀、高柳広：Osteoimmunology - 破骨細胞の誘導と炎症。  
整形外科58 (12) 1615-1624 (2007)

末松綾子、高柳広：抗リウマチ薬によるNFATc1抑制を介した破骨細胞分化制御  
リウマチ科38 (1) 59-63 (2007)

中島友紀、高柳広：破骨細胞と免疫系生体の科学58 (3) 196-204 (2007)

高柳広：Osteoimmunologyと破骨細胞

医学のあゆみ 221 (1) 37-45 (2007)

高柳広：破骨細胞分化・活性化の分子機構  
CLINICAL CALCIUM 17 (4) 484-492 (2007)

高柳広：破骨細胞分化を増やすT細胞の同定  
整形外科 58 (4) 406 (2007)

## 2. 学会発表

高柳広 関節リウマチ骨破壊と骨免疫学  
盛岡臨床整形外科医会、2008.1.30、盛岡

高柳広 関節リウマチ骨破壊と骨免疫学  
リウマチ性疾患研究会、2008.1.26、東京

高柳広 関節リウマチ骨破壊と骨免疫学  
埼玉リウマチ研究会、2008.1.25、大宮

菖蒲池健夫、久木田敏夫、永田健吾、寺町順平、朝霧成挙、高柳広、久木田明子 カテプシンKプロモーターによりOC2Pが発現するトランスジェニックマウスの解析 第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会合同大会 (ポスター)、2007.12.12、横浜

今井祐記、中村貴、松本高広、佐藤信吾、五十嵐勝秀、原田善史、山本陽子、竹田秀、高柳広、菅野純、高岡邦夫、加藤茂明 閉経後骨粗鬆症の分子基盤解明 第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会合同大会  
2007.12.14、横浜

西川恵三、高橋智、高柳広 骨芽細胞・脂肪細胞運命決定における転写因子c-Mafの役割 第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会合同大会、2007.12.12、横浜

高柳広：破骨細胞分化シグナルと骨免疫学 福岡歯科大学学術フロンティア研究シンポジウム  
2007.12.5、福岡

高柳広：破骨細胞分化の制御機構 第1回骨・軟骨フロンティア、2007.12.1、東京

高柳広：破骨細胞分化シグナルと骨免疫学 徳島Bone Forum、2007.11.29、徳島

朝霧成挙、平井利武、國上敏浩、鎌野俊哉、Hans-Jurgen Guber、岡本一男、西川恵三、森下保幸、高柳広 Regulation of dendritic cell function by cathepsin K. 日本免疫学会総会

学術集会、2007.11.22、東京

越智小枝、篠原正浩、佐藤浩二郎、Hans-Jurgen Goyer、古賀貴子、児玉龍彦、高井俊行、宮坂信之、高柳広 炎症関節での破骨細胞分化におけるpaired immunoglobulin-like receptor-Aの病的意義について 日本免疫学会総会学術集会、2007.11.21、東京

篠原正浩、高柳広 Tecキナーゼファミリーによる破骨細胞分化制御機構 日本免疫学会総会学術集会、2007.11.21、東京

高柳広 骨免疫学の新展開 九州歯科大学大学院セミナー、2007.11.8、福岡

高柳広 破骨細胞分化シグナルと骨免疫学 婦人科骨粗鬆症研究会、2007.11.3、東京

Hiroshi Takayanagi: Molecular mechanism of osteoclast differentiation. JSPS Core-to-Core Program, The First International Workshop on Advanced Bone and Joint Science (ABJS) 2007, 2007.10.29, Tokyo

高柳広 関節リウマチ骨破壊と骨免疫学 第35回日本臨床免疫学会ランチョンセミナー、2007.10.19、大阪

Hiroshi Takayanagi: Bone Destruction in Arthritis and Osteoimmunology. 4<sup>th</sup> International Symposium of Chosun University Hospital, 2007.9.29, Kyang Ju, Korea

Hiroshi Takayanagi: Mechanism of osteoclast differentiation Meet-the-Professor Session The 29th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research. 2007.9.19, Honolulu, U.S.A.

M. Shinohara, T. Koga, K. Okamoto, H. Takayanagi Tec Tyrosine Kinases Are Essential For Osteoclast

Differentiation. The 29th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research. 2007.9.19, Honolulu, U.S.A.

A. Suematsu, K. Sato, T. Nakashima, S. Takemoto-Kimura, K. Aoki, K. Ohya, A. Yamaguchi, T. A. Chatila, Haruhiko Bito, H. Takayanagi. The CaMK-CREB Pathway Regulates Osteoclast Differentiation and Function. (Poster) The 29th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research. 2007.9.19, Honolulu, U.S.A.

高柳広 骨と免疫の世界 第28回日本炎症再生医学会 特別企画シンポジウム「リウマチ研究から生まれた新しい炎症論」、2007.8.3、東京

高柳広 破骨細胞分化と骨免疫学 第28回日本炎症再生医学会 教育講演、2007.8.3、東京

佐藤浩二郎、末松綾子、岡本一男、三村俊英、高柳広 破骨細胞分化促進性T細胞サブセットの同定 第28回日本炎症再生医学会、2007.8.2、東京

越智小枝、篠原正浩、佐藤浩二郎、高柳広 炎症性骨破壊における破骨細胞共刺激因子の役割 第28回日本炎症再生医学会、2007.8.3、東京

Hiroshi Takayanagi The regulation of bone metabolism by the immune system. 第25回日本骨代謝学会学術集会 ASBMR/JSBMR合同シンポジウム、2007.7.20、大阪

篠原正浩、古賀貴子、岡本一男、高柳広 Tecキナーゼファミリーによる破骨細胞分化制御機構 第25回日本骨代謝学会学術集会、2007.7.21、大阪

末松綾子、佐藤浩二郎、中島友紀、青木和広、大谷啓一、山口朗、高柳広 CaMK/CREB経路による破骨細胞制御メカニズム 第25回日本骨代謝学会学術集会、2007.7.21、大阪

日方智宏、高石官成、松本征仁、高柳広、浅原弘嗣、戸山芳昭 PIAS3は、RANKL刺激による破骨細胞形成を抑制する 第25回日本骨代謝学会

学術集会、2007. 7. 19、大阪

久木田明子、菖蒲池健夫、朝霧成挙、高柳広、久木田敏夫 RANKLにより発現が誘導されるPOZ-ZF転写制御因子OCZFはc-Fos蛋白質を増加させる 第25回日本骨代謝学会学術集会、2007. 7. 19、大阪

趙宝紅、高見正道、山田篤、王九虎谷、須澤徹夫、宮本洋一、高柳広、上條竜太郎 IRF-8(interferon regulatory factor 8)は破骨細胞分化を抑制する転写因子である 第25回日本骨代謝学会学術集会、2007. 7. 21、大阪

菖蒲池健夫、久木田敏夫、永田健吾、寺町順平、朝霧成挙、高柳広、久木田明子 カテプシンKプロモーターによりOCZFが発現するトランスジェニックマウスの解析 第25回日本骨代謝学会学術集会、2007. 7. 21、大阪

古川満、高石官成、坂井貞興、依田昌樹、高柳広、吉田裕樹、戸山芳昭 破骨細胞分化におけるIL-27の役割 第25回日本骨代謝学会学術集会、2007. 7. 21、大阪

高柳広 関節リウマチ骨破壊のメカニズムと骨免疫学 第8回日本リウマチ財団 中国四国リウマチ外科セミナー、2007. 7. 7、高知

高柳広 Th17は炎症と骨破壊を結びつける破骨細胞誘導性T細胞である 日本インターフェロンサイトカイン学会、2007. 7. 5、京都

高柳広 破骨細胞分化のメカニズム 大阪骨代謝研究会、2007. 7. 2、大阪

高柳広 関節リウマチ骨破壊のメカニズムとTh17 発生工学疾患モデル研究会、2007. 6. 27、東京

高柳広 破骨細胞分化シグナルと骨免疫学 BMC研究会、2007. 6. 25、川越

高柳広 骨吸収制御のための新たな治療標的を求めて 日本骨形態計測学会ゴッホセミナー (イブニングセミナー)、2007. 6. 1、長崎

Hiroshi Takayanagi: Role of NFAT in Osteoclast Formation 2nd Conference on Skeletal Biology and Medicine, 2007. 4. 26,

New York, U. S. A.

末松綾子、田尻康人、中島友紀、越智小枝、織田弘美、中村耕三、田中栄、高柳広 抗リウマチ薬の併用による破骨細胞分化抑制作用の増強 第51回日本リウマチ学会総会・学術集会、2007. 4. 27、横浜

佐藤浩二郎、末松綾子、岡本一男、三村俊英、高柳広 Th17はリウマチ骨破壊を促進する破骨細胞誘導生ヘルパーT細胞サブセットである 第51回日本リウマチ学会総会・学術集会、2007. 4. 27、横浜

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得  
なし

2. 実用新案登録  
なし

3. その他  
なし

厚生労働科学研究補助金（免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業）  
分担研究報告書

抗リウマチ治療による関節破壊制御の臨床的評価

分担研究者 木村友厚 富山大学医学部整形外科 教授  
研究協力者 松下 功、小坂英子 富山大学医学部整形外科

研究要旨

関節リウマチ（RA）治療において、TNF 阻害薬をはじめとする有効な治療法の導入により、疾患活動性制御に加えて、手足の小関節については関節破壊抑制が達成可能な目標となった。しかし運動機能障害に最も大きな影響を与える荷重関節についての効果は不明であり、これらの関節では破壊進行が止まらない可能性がある。我々は荷重関節をターゲットとした局所治療の一つとして、HDACI と低強度超音波の追加併用による破壊制御の可能性を示してきたが、このような新規治療追加のベースとなる RA 臨床例の荷重関節における現行 TNF 阻害薬の効果を明らかにするために、活動性の RA 患者に TNF 阻害治療を行い、荷重大関節破壊の推移を股、膝、足関節について検討した。その結果 122 荷重関節の X 線変化の解析で、10 関節（8.2%）で破壊の進行を認めしたが、残る 112 関節では破壊進行が抑制された。ベースラインの関節 grade 別の解析では、TNF 阻害薬開始時に破壊が比較的軽度な Larsen grade 0-II の関節では、その後に破壊の進行をほとんど認めなかった。しかし grade III/IV の股関節と膝関節では、全ての関節で破壊が進行した。一方、足関節は異なった臨床経過を示し、破壊進行は完全に抑制され、4 関節には修復像が認められた。本結果は、荷重関節に対しても現行の TNF 阻害薬が破壊抑制効果を示す一方で、膝、股関節については一旦中等度の関節破壊を生じてしまった場合には、TNF 阻害薬使用下でも全例が進行性の破壊を示すことを示している。荷重大関節については、破壊の徴候が見られるならば TNF 阻害薬使用あるいは新規の局所治療の導入も含めて、関節破壊を徹底的に阻止する戦略が必要である。

A. 研究目的

関節リウマチ（RA）治療は、生物学的製剤の導入により、疾患活動性制御に加えて骨びらんの進行が抑制され、ときには修復様の像も見られるようになってきた。しかしこのような関節に対する生物学的製剤の破壊抑制効果は、あくまで手指や足趾の小関節についての観察であり、RA 患者の機能障害に、より大きな影響を与える大関節や荷重関節、すなわち股関節、膝関節、足関節に対する効果は全く不明である。これらの大関節の破壊がひとたび進行すると、歩行障害などの機能障害を来たして患者の ADL や QOL は極めて著しく侵されることになる。荷重関節もターゲットとした新規治療の導入が待たれる

が、本研究ではそのベースとなる RA 患者における現行の生物学的製剤の投与前後の関節破壊の推移を評価検討した。さらに荷重関節機能維持の観点から、行うべき治療タイミングについても検討を加えた。

B. 研究方法

TNF 阻害薬（Infliximab または Etanercept）を投与した連続する RA 患者 25 名（男性 4 名、女性 21 名、平均年齢 60.2 歳、平均罹病機関 157 ヶ月）を対象とした。これらの患者の計 122 荷重関節（39 股関節、36 膝関節、47 足関節、過去に手術を受けたことのある関節を除く）について、6-24 ヶ月の治療期間における X 線所見の



変化を Larsen 分類で評価し、さらに X 線上の関節裂隙の幅、骨びらんの数と大きさの変化を、TNF 阻害薬開始前と最終調査時で詳細に比較調査した。また TNF 阻害薬の臨床的効果は DAS28 を用いた EULAR 改善基準で判定した。

全ての患者からは、画像・検査データの解析ならびに本研究参加についての同意を得た。

### C. 研究結果

122 荷重関節の X 線変化の解析で、5 関節に Larsen grade の進行、すなわち関節破壊の進行を認めた。さらに 5 関節では同一の Larsen grade 内であったが、明白な骨びらんの進行を認めた。従って、6 ヶ月以上の TNF 阻害薬による治療経過で、計 10 関節 (8.2%) の荷重関節で破壊の進行を認めたが、残る 112 関節では破壊進行が抑制されていた。ベースラインの関節破壊 grade 別の解析では、TNF 阻害薬開始時に破壊が比較的軽度な Larsen grade 0-II の関節では、その後に破壊の進行をほとんど認めなかった。しかし grade III/IV の股関節と膝関節では、全ての関節で破壊が進行した。図 1 には膝関節についての結果を示す。

疾患活動性と関節破壊進行の検討では、ベースラインでの CRP 高値が関節破壊進行と有意に関連していたが、MMP-3 と赤沈値には関与が認められなかった。また疾患活動性が低くても、Larsen grade III/IV の破壊が進んだ股関節・膝関節では、さらなる破壊進行が避けられないこと、また Larsen grade が 0-II であっても、EULAR 改善基準で臨床的効果が乏しい場合には、破壊の進行が認められることが明らかとなった (図 2)。

一方、足関節は異なった臨床経過を示し、ベースラインの関節破壊程度にかかわらず、TNF 阻害治療で破壊の進行がほとんど阻止された。特筆すべきは、足関節に限って骨びらんの明白な改善を伴う修復像が 4 関節に認められた (not shown)。

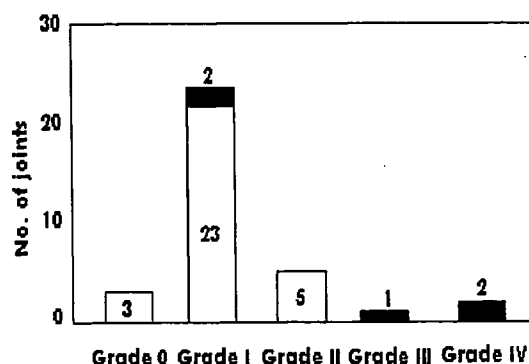


図 1. ベースラインの Larsen grade と膝関節破壊の進行。Closed bar は進行例。

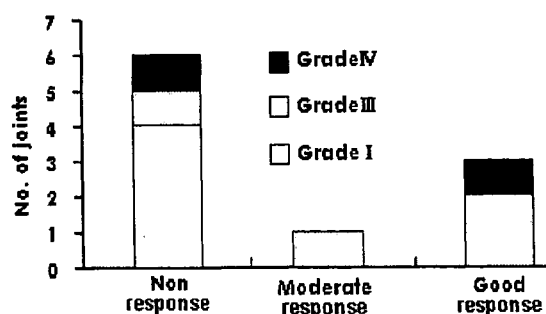


図 2. 関節破壊進行例における EULAR response criteria とベースライン grade

### D. 考察

本研究結果は、TNF 阻害治療により、股関節・膝関節・足関節の荷重大関節における破壊の進行が約 92% の関節では阻止されることを示している。さらに足関節においては、破壊の修復も認められる可能性が明らかとなった。しかしながら、股関節と膝関節という RA 患者の運動機能に最も影響を与える大関節においては、一度 Larsen grade III 以上の破壊に至れば、疾患活動性の程度によらず、さらなる破壊の進行が必須であることも明白となった。このことは手指や足趾で認められた TNF 阻害治療による dissociation (疾患活動性が改善しなくても、骨びらんが進行しない場合がある) が、大関節では期待できないことを示している。現在、RA 患者の股関節・膝関節破壊の進行に引き続く機能障害により、これらの関節に対して年間約 3

万件以上の手術を必要としている。本研究結果は、これら荷重関節の評価の重要性とともに、そこに何らかの破壊が生じ始める前に、TNF 阻害等の有効性のある治療的介入を行うことが必須であることを示すものである。同時に荷重関節をターゲットとした治療戦略の必要性を示すものである。

#### E. 結論

TNF 阻害治療により、RA 関節破壊の進行は大関節（股関節・膝関節・足関節）においても阻止されることが多い。しかし既に一定以上に破壊を生じた関節では、治療に関らず破壊の進行が必須であり、破壊出現前に、現行の TNF 阻害薬あるいはその他の新規治療の介入が求められる。

#### F. 健康危険情報

該当なし

#### G. 研究発表

##### 1. 学会発表

- Nakamura C, Matsushita I, Kosaka E, Kondoh T, Kimura T: Ultrasound-induced enhancement of histone deacetylase inhibition on rheumatoid synovial cells. 53<sup>rd</sup> Annual Meeting of Orthopaedic Research Society. San Diego, Feb, 2007.
- Sugimori K, Motomura H, Kitajima I, Kimura T: Determination of transcriptional regulation proteins that interact with cartilage-specific sequence of COL11A2 promoter. 53<sup>rd</sup> Annual Meeting of Orthopaedic Research Society. San Diego, Feb, 2007.
- Watanabe H, Shionyu M, Kimura T, Kimata K, Watanabe H: Splicing factor 3b subunit 4 binds BMPR-IA and inhibits osteochondral cell differentiation. 53<sup>rd</sup> Annual Meeting of Orthopaedic Research Society. San

Diego, Feb, 2007.

- Motomura H, Niimi H, Sugimori K, Ohtsuka T, Kimura T, Kitajima I: Gas6, a new regulator of chondrogenic differentiation from mesenchymal cells. 53<sup>rd</sup> Annual Meeting of Orthopaedic Research Society. San Diego, Feb, 2007.

##### 2. 論文発表

- Nakamura C, Matsushita I, Kosaka E, Kondo T, Kimura T: Anti-arthritic effects of combined treatment with histone deacetylase inhibitor and low-intensity ultrasound in the presence of microbubbles in human rheumatoid synovial cells. Rheumatology 2008; in press.
- Tokunaga A, Oya T, Motomura H, Ishizawa S, Ishii Y, Kanamori M, Kimura T, Sasahara M: Platelet-derived growth factor receptor b is suppressive for osteogenic differentiation in murine mesenchymal cells. J Bone Miner Res 2008; in press.
- Motomura H, Niimi H, Sugimori K, Ohtsuka T, Kimura T, Kitajima I: Gas6, a new regulator of chondrogenic differentiation from mesenchymal cells. Biochem Biophys Res Comm 2007; 357: 997-1003.
- Watanabe H, Shionyu M, Kimura T, Kimata K, Watanabe H: Splicing factor 3b subunit 4 binds BMPR-IA and inhibits osteochondral cell differentiation. J Biol Chem 2007; 282: 20728-20738.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

該当なし

##### 2. 実用新案登録

該当なし

##### 3. その他

該当なし

慢性疼痛の分子伝達

分担研究者 植田弘師 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科  
分子薬理学分野教授

【研究要旨】

長期間に及び全身性に激しい痛みを生じる線維筋痛症の発症機構は解明されておらず、その原因の一つに動物実験モデルが確立されていないことがあげられる。我々はストレスを一つの誘発因子と捉え、ストレス曝露による動物モデルの作製を行った。一般的にストレスは生態防御機構として鎮痛効果を示すことが知られているが、ごく限られた例でみられる繰り返しストレスによる過敏応答の評価を行うことで、本疾患のモデルとしての有用性を検討した。また、臨床で数例線維筋痛症に効果的であったと報告されているガバペンチンをこのモデルに適用させた時、有意な鎮痛効果が認められた。これらの疼痛評価を通し、ストレス性モデルが線維筋痛症の動物モデルになりうると考えられる。

A. 研究目的

本研究の目的は大きく分けて2つあり、一つ目は、中枢性疾患としての線維筋痛症の動物モデルの確立である。二つ目の目的は、線維筋痛症に対する治療戦略の基盤作りとして、鎮痛薬や阻害薬などを用いた薬理的解析による分子機構の解明である。

B. 研究方法

実験動物には6週齢(体重18-20g)のC57BL/6J系雄性マウスを用いた。疼痛評価法には機械刺激誘発性疼痛試験(Digital von Frey)法を用いた。また過去に報告した全身性疼痛の検討に加え、電気刺激誘発性屈曲反応試験(Electrical stimulation-induced paw withdrawal: EPW)法による検討を行った。

ストレス性疼痛モデルの作製

繰り返し寒冷負荷によるSART(Specific Alteration of Rhythm in environmental Temperature stress)ストレスモデルを作成した。具体的には、以下の要領で行った。

ストレスを負荷するマウスは夕方16時30分から冷温(4℃)の環境にて飼育し、一晩おいた。翌日の10時に室温(24℃)に戻した時点から、繰り返しストレス開始とし、この日をストレス1日目とした。ストレス1日目は、24℃に戻してから30分後に再び4℃にて寒冷負荷を与える。以後、30分毎に24℃と4℃の飼育環境を変化させ、この繰り返しを16時30分まで行った。16時30分からストレス2日目の10時まで、ストレス前日と同様に4℃下で飼育した。これを2日目にも同様に遂行した後、3日目の10時に24℃に戻し、1時間おいた時点でストレス終了とした。この対照群

として、同様の時間(ストレス前日の16時30分からストレス3日目の10時まで)を24℃でのみ飼育したマウスを用いた。同様に常に4℃で飼育したマウスを低温ストレス群とした。

薬物投与方法

SARTストレス曝露後、モデルマウスにgabapentin(0.3-3mg/kg)を腹腔内投与し、30分後の疼痛閾値の変化を比較した。

(倫理面への配慮)

本研究は長崎大学動物実験委員会(IACUC)による許可を受け、長崎大学動物実験指針および疼痛実験に対する国際委員会で定められる方法準じて実施した。(承認番号:0706130596号)

C. 研究結果

1. ストレス誘発性疼痛閾値評価

連続的に4℃下の環境で飼育した低温ストレス群と寒冷負荷を繰り返し曝露したSARTストレス群の疼痛閾値を評価した。その結果、低温ストレス群ではストレス後1日目でのみ一時的な過敏応答がみられるものの、3日目以降すぐに回復した。一方、SRATストレス群では閾値の低下は回復することなく、少なくとも19日以上慢性的な過敏応答を示した。

2. ストレス誘発性疼痛閾値評価

今回新たに行った電気刺激による屈曲反応の測定にはNeurometer CPT/C(Neurotron, Inc)を用いた。試験には5、250、2000Hzの3つの周波数を用いて、低閾値から徐々に高い刺激を与え、感知できる最低レベルの刺激量を測定した。これは、それぞれの刺激に対応する伝達する知覚線維を特異的に評価し数値化する事が可能な方法である。5Hzの刺激における反応閾値はストレ

ス後1日目の対照群において $72 \pm 5.8 \mu\text{A}$ の数値が得られた。これに対して、ストレス群では $71.7 \pm 6 \mu\text{A}$ と差はみられなかった。一方で、250Hzおよび2000Hzの刺激により、ストレス後1日目におけるストレス群は、250Hzでは $88.4 \pm 8.6 \mu\text{A}$ 、2000Hzでは $256 \pm 13 \mu\text{A}$ の疼痛閾値を示し、それぞれの対照群が $163 \pm 7.6 \mu\text{A}$ 、 $362 \pm 9.4 \mu\text{A}$ の閾値で反応を示すのに対して、有意な差が認められた。

### 3. ストレス性疼痛における薬物の鎮痛効果

SRATストレス曝露後のマウスに対して、gabapentin(0.3-3mg/kg)を腹腔内投与した30分後の疼痛閾値の比較を行った結果、3mg/kgの用量を用いたとき、有意な鎮痛効果が得られた。

## D. 考察

低温ストレス群が一過性の疼痛であったのに対し、SARTストレス群では慢性疼痛を生じていたことから、SARTストレス性の疼痛は冷温曝露によるものではなく、繰り返シストレス曝露した結果、生じたものである事が明らかになった。また長期的な過敏応答を招く原因がストレスの繰り返シ負荷である事が考えられる。

本研究において、過去に行った圧刺激性、熱刺激性、化学刺激性の疼痛評価では全てにおいて過敏応答が見られ、線維筋痛症の特徴的な全身性疼痛が確認されている。そこで、今回さらに電気刺激によるSARTストレス性疼痛における痛みの責任線維を明らかにした。対象群の閾値とストレス群の閾値で無変化であった5Hzの刺激は、C線維性知覚神経に特異的であるため、SARTストレスにおいてC線維の痛覚伝達に影響が少ない可能性が考えられる。一方、閾値低下がみられた250Hz及び2000Hzに対応する $A\delta$ 及び $A\beta$ 線維性知覚刺激はSARTストレスによる過敏応答に寄与している事が明らかになった。

さらに、近年その鎮痛効果が注目されるgabapentinの投与が本モデルにおいて有効な回復傾向を示した。

## E. 結論

今回の結果から、我々は3つの結論を見いだした。まず初めにストレスを繰り返シ曝露する事により、慢性的で、様々な痛みに対する過感受性を示す事が明らかになった。またこの痛みにおいては、特にA線維が関与している可能性が示唆された。さらに、gabapentinが本モデルにおいてごく少量でも有効であった事から、線維筋痛症の治療薬の一つとなりうるのではないかと考えられる。今後はこれらの作用機序を含め、総括的な病態解明と治療薬の探索を検討してい

きたい。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1) Inoue M, Xie W, Matsushita Y, Chun J, Aoki J and Ueda H : Lysophosphatidylcholine induces neuropathic pain through an action of autotaxin to generate lysophosphatidic acid. Neuroscience, in press, 2008.

2) Inoue M, Ma L, Aoki J, Chun J, Ueda H : Autotaxin, a synthetic enzyme of lysophosphatidic acid (LPA), mediates the induction of nerve-injured neuropathic pain. Mol Pain, 2008 Feb 8;4(1):6

### 2. 学会発表

国際学会(一般講演)

Nishiyori M, Xie W, Ma L and Ueda H : The Specific Alteration of Rhythm of environmental Temperature (SART) stress as a model of generalized pain syndrome (or fibromyalgia). 37<sup>th</sup> The Society for Neuroscience, San Diego, 2007, 11.

国内学会(招待講演)

植田弘師 : 全身性疼痛症候群 (Generalized Pain Syndrome) としての線維筋痛症の動物実験モデル、第一回線維筋痛症研究会 FMSトピックス、2007年9月(東京)

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許出願

特になし

### 2. 実用新案登録及びその他

特になし