

C. 研究結果

タクロリムスは転写因子 NFAT の活性を抑制することが知られているため、破骨細胞における NFATc1 活性化を抑制することが期待される。予想通り、タクロリムスは強く破骨細胞分化を抑制し、炎症性骨破壊モデルにおける効果と一致した。しかし、正常な個体に投与した結果は予想に反して骨量減少を引き起こし、骨芽細胞による骨形成に悪影響を与えることが示された。NFATc1 を欠損した造血幹細胞移植では、Fos 欠損マウスの大理石骨病が改善しないことから、NFATc1 が破骨細胞の分化に必須であることが生体レベルで証明された。OSCAR は、カルシウムシグナルを介して NFATc1 誘導を促進するが、この NFATc1 によって OSCAR が誘導されることで、正の feedback がかかることが明らかとなった。

D. 結論

タクロリムスは関節リウマチの骨破壊に効果があることが臨床的に示されているが、効果を高めるためには細胞特異的に作用させる工夫や長期投与を防ぐことが必要である。破骨細胞分化における NFATc1 の重要性が生体レベルで証明されたことで、骨破壊抑制において NFATc1 を標的とすることは非常に合理的な方法であることが示された。

E. 健康危惧情報

なし

F. 研究発表

1. 学会発表

M. Asagiri, T. Koga, K. Sato, H. Takatsuna, K. Umezawa, H. Takayanagi. Regulation of bone metabolism by NF- κ B and NFAT
KEYSTONE SYPOSIA Mar. 23-28, 2006, Banff, Canada

田口 祐、合田 仁、秋山 透、古賀 貴子、高柳 広、田中 栄、井上 純一：RANK/TRAFF6 シグナルによる破骨細胞分化誘導の分子機構。第 28 回日本分子生物学会年会、福岡、2005.12.9

高柳 広：関節リウマチ骨破壊と骨免疫学。第 41 回日本医学放射線学会秋季臨床大会、2005.10.6、広島

高柳 広：炎症性骨破壊の分子機構とその制御。第 47 回歯科基礎医学会学術大会、2005.9.30、仙台

Hiroshi Takayanagi: Regulation of osteoclasts by the immune system. 5th Global Arthritis Research Network (GARN), 2005.9.16, Vienna, Austria

高柳 広：関節リウマチと RANKL。第 2 回日本病理学会ガンファランス 2005 道後、2005.7.30、愛媛

古賀 貴子、中島 和久、高柳 広：NFAT ファミリー転写因子による骨形成制御。第 23 回日本骨代謝学会学術集会、大阪、2005.7.23

高柳 広：破骨細胞機能低下メカニズムの多様性。第 23 回日本骨代謝学会学術集会、2005.7.22、大阪

朝霧 成拳、佐藤 浩二郎、越智 小枝、宇佐 美貴子、森田 育男、高柳 広：NFATc1 が破骨細胞分化に必須であることの生体レベルでの証明。第 23 回日本骨代謝学会学術集会、大阪、2005.7.22

高柳 広：RA による骨・関節破壊メカニズム。第 23 回日本骨代謝学会学術集会、2005.7.21、大阪

Hiroshi Takayanagi: Regulation of osteoclast differentiation by NFATc1. The 2005 Gordon Conference on Bones and Teeth, 2006.7.11, University of New England, U.S.A.

Hiroshi Takayanagi: The Role of NFAT in osteoclast differentiation. European Calcified Tissue Society and International Bone and Mineral Society (ECTS, IBMS), 2005.6.26, Geneva, Switzerland

Hiroshi Takayanagi: Osteoimmunology—a new regulatory mechanism. Annual European Congress of Rheumatology "EULAR 2005", 2005.6.8, Vienna

高柳広：炎症性骨破壊と破骨細胞の制御。第59回日本口腔科学会徳島大会、2005.4.21、徳島

高柳広：Regulation of bone metabolism by the immune system. 14th International Rheumatology Symposium, 2005.4.19、横浜

2.論文発表

Asagiri, M., Sato, K., Usami, T., Ochi, S., Nishina, H., Yoshida, H., Morita, I., Wagner, E. F., Mak, T. W., Serfling, E., & Takayanagi, H. Autoamplification of *NFATc1* determines its essential role in bone homeostasis. **J Exp Med** 202, 1261-1269 (2005)

Koga, T., Matsui, Y., Asagiri, M., Kodama, T., Crombrughe, B., Nakashima K. & Takayanagi, H. NFAT and Osterix cooperatively regulate bone formation. **Nat Med** 11, 880-885 (2005)

Kim, Y., Sato, K., Asagiri, M., Morita, I., Soma, K., and Takayanagi, H. Contribution of NFATc1 to the transcriptional control of immunoreceptor OSCAR but not TREM-2 during osteoclastogenesis. **J Biol Chem** 280, 32905-32913 (2005)

Lee, F.Y., Kim, D.W., Karmin, J.A., Hong, D., Chang, S.S., Fujisawa, M., Takayanagi, H., Bigliani, L.U., Blaine, T.A., and Lee, H.J. μ -calpain regulates RANKL-supported osteoclastogenesis via NF-kB activation in raw 264.7 cells. **J Biol Chem** 280, 29929-29936 (2005)

Gohda, J., Akiyama, T., Koga, T., Takayanagi, H., Tanaka, S. and Inoue, J. RANK-mediated amplification of TRAF6 signaling leads to NFATc1 induction during osteoclastogenesis. **EMBO** 24, 790-799 (2005)

Takatsuna, H., Asagiri, M., Kubota, T., Oka, K., Osada, T., Sugiyama, C., Saito, H., Aoki, K., Ohya, K., Takayanagi, H. and Umezawa K.
Inhibition of RANKL-induced Osteoclastogenesis by

(-)-DHMEQ, a Novel NF- κ B Inhibitor, through Downregulation of NFATc1. **J Bone Mineral Res** 20, 653-662 (2005)

Takayanagi, H., Sato, K., Takaoka, A., Taniguchi, T. Interplay between interferon and other cytokine systems in bone metabolism. **Immunol Rev** 208, 181-193 (2005)

Takayanagi, H. Osteoimmunological insight into bone damage in rheumatoid arthritis. **Mod Rheumatol** 15, 225-231 (2005)

Takayanagi, H. Inflammatory bone destruction and osteoimmunology. **J Periodontal Res** 40, 287-293 (2005)

Takayanagi, H. Mechanistic insight into osteoclast differentiation in osteoimmunology. **J Mol Med** 83, 170-179 (2005)

Takayanagi, H., Kim, S., Koga, T. and Taniguchi, T. Stat1-mediated cytoplasmic attenuation in osteoimmunology. **J Cell Biochem** 94, 232-240 (2005)

G.知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
特になし

2. 実用新案登録
特になし

3. その他
特になし

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

抗リウマチ薬剤導入による軟骨細胞分化と再生

分担研究者 妻木 範行 大阪大学大学院医学系研究科助手

研究要旨

関節軟骨は成長軟骨と異なり、肥大化・石灰化することなく軟骨の特性を永久に保持する。骨形成因子(BMP)は骨・軟骨における遺伝子発現の統合的制御を担う分子として、重要な役割を果たしていると考えられている。本研究では BMP によって誘導される軟骨増殖、肥大化を担うシグナルの解明を試みた。種々の細胞内シグナルを阻害する薬剤を BMP 存在化での軟骨原基の器官培養に添加し、軟骨の増殖、分化を検討した。軟骨細胞の肥大石灰化には、Smad 蛋白, p38 MAP-kinase, そして Pi3-kinase を介した経路が重要な役割を果たしていることが判明した。これらの経路を抑制することで、軟骨変性疾患において軟骨の増殖能を維持しつつ、変性を抑えうる可能性を考えた。

A. 研究目的

軟骨は関節の構成体として運動機能を担うために、特異的な細胞外マトリックスが産生・構築されてきた高度に分化した組織である。正常の関節軟骨では成長軟骨と異なり、軟骨細胞は肥大化／アポトーシスに陥って変性することはなく、永久に軟骨細胞外マトリックスを代謝・維持する。しかし関節リウマチなどでの変性軟骨ではこの維持機構が破綻している。軟骨破壊の予防、回復を目指すには、軟骨細胞の分化、肥大化、そしてマトリックス遺伝子発現を制御するシグナル伝達機構を解明し、それらをターゲットに軟骨分化、増殖、変性をコントロールしうる薬剤を開発することが必要である。骨形成因子 (BMP) は軟骨増殖・分化の制御に重要な役割を果たしている。我々はその細胞内シグナル伝達を担う Smad 蛋白を軟骨特異的に阻害させた Smad6 トランスジェニックマウスを作製し、そのマウスでは軟骨細胞

の肥大化が抑制され、増殖軟骨細胞の形質が維持されることを見出した。本研究ではこのマウスの器官培養軟骨原基に種々の薬剤を添加し、シグナル伝達の変化と軟骨細胞の肥大化、遺伝子発現変化との関連を検討した。

B. 研究方法

軟骨特異的に Smad6 を発現させたトランスジェニックマウス (Tg) と正常マウス (WT) の 14.5 日目胎仔中足骨軟骨原基の器官培養を rhBMP2 (500ng/ml) 存在下で行った。SB-203580 (p38 MAP-kinase 阻害剤); PD-98059 (MEK1/2 阻害剤 (ERK の活性化を阻害)); LY-294002 (Pi3-kinase 阻害剤) を各々添加し (20 · M), 7 日間培養した。誘導された増殖軟骨層と石灰化肥大軟骨層の形態を定量的に評価し、組織学的にマーカー遺伝子の発現を *in situ* hybridization にて解析した。また WT 軟骨原基に種々の薬剤を添加し、その軟骨増殖促進効果を

BMP と比較した。

C. 研究結果

SB-203580 投与により, Tg 由来の軟骨では WT 由来に比べて軟骨細胞の肥大石灰化が完全に抑えられ, X 型コラーゲン遺伝子 (*Col10a1*), *Mmp13* の発現を認めなかった. 増殖軟骨細胞層には影響を与えなかった. PD-98059 投与は, Tg および WT 由来軟骨において増殖軟骨層と石灰化肥大軟骨層の誘導に影響を与えなかった. LY-294002 投与により, Tg 由来軟骨では石灰化肥大軟骨層の出現が著明に抑えられ, *Col10a1* は発現が限局し, *Mmp13* は発現を認めなかった. また軟骨原基器官培養にある Small compound を投与したところ, BMP 添加の場合とほぼ同程度の増殖軟骨の拡大を認めた. しかし培養軟骨細胞に対しては細胞増殖効果を示さなかった. この 2 つの培養系の違いの一つは軟骨膜の有無であるため, この compound は軟骨膜に働いて 2 次的に軟骨を増殖させていることが考えられた.

D. 考察

p38 MAP-kinase 及び Pi3-kinase を介した経路は, Smad 蛋白による経路と協調して軟骨の肥大石灰化を制御していると考えた. これらの pathway をターゲットとする薬剤を開発し, 関節軟骨に投与することで関節軟骨の変性を抑えられる可能性を考える. また軟骨を増やすためには, 軟骨膜を介した軟骨細胞へのシグナルが重要な役割を果たしていることが示唆された.

D. 結論

軟骨細胞の肥大石灰化には, Smad 蛋白, p38 MAP-kinase, そして Pi3-kinase

を介した経路が重要な役割を果たしていた. 軟骨変性の治療において, これらの pathway がターゲットの一つになりうると思った.

E. 健康危険情報 無し

F. 研究発表

1. 学会発表

1. T. Iwai, N. Tsumaki, J. Murai, A. Myoui, H. Yoshikawa.: Low-intensity pulsed ultrasound and new bone formation within interconnected porous calcium hydroxyapatite ceramics. 27th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research (2005) Sep 23-27, Nashville
2. Junko Murai, Mina Okamoto, Hideki Yoshikawa, and Noriyuki Tsumaki: Overexpression of BMP4 in bone increased osteoclast number and caused osteopenia. 2nd Joint meeting of the European Calcified Tissue Society and the International Bone and Mineral Society. (2005) Jun 25-29, Geneva
3. M. Okamoto, J. Murai, H. Yoshikawa, N. Tsumaki: Role of BMP signals in endochondral ossification and fracture repair: activation of osteoclastic resorption and remodeling of bone.. 2nd Joint meeting of the European Calcified Tissue Society and the International Bone and Mineral Society. (2005) Jun 25-29, Geneva
4. Takao Iwai, Mitsuru Horiki, Junko Murai, Hideki Yoshikawa, Noriyuki Tsumaki : Bone morphogenetic protein signaling in chondrocyte proliferation and hypertrophy during endochondral bone formation. 2nd Joint

- meeting of the European Calcified Tissue Society and the International Bone and Mineral Society. (2005) Jun 25-29, Geneva
5. M. Okamoto, J. Murai, H. Yoshikawa, N. Tsumaki: BMP signaling in bone stimulate osteoclastic bone resorption and remodeling during endochondral bone formation and fracture repair. Gordon Conferece, Cartilage Biology and Pathology. (2005). Jun 5-9, Il Ciocco, Italy
 6. 岩井貴男, 堀木充, 村井純子, 吉川秀樹, 妻木範行: 軟骨細胞増殖・肥大化における BMP シグナル伝達経路の解明. 第 18 回日本軟骨代謝学会 3/18-19, 2005 千里ライフサイエンスセンター
 7. 妻木範行, 堀木充, 村井純子, 岩井貴男, 岡本美奈, 吉川秀樹: 軟骨・骨形成と BMP シグナル. 第 37 回日本結合組織学会学術大会, 2005 年 5 月 26, 27 日 富山
 8. 岡本美奈, 村井純子, 吉川秀樹, 妻木範行: BMP は内軟骨性骨形成と骨折治癒過程において破骨細胞性骨吸収とリモデリングを促進する: 第 23 回日本骨代謝学会, 2005 年 7 月 21-23 日 大阪国際会議場
 9. 妻木範行, 岡本美奈, 村井純子, 岩井貴男, 吉川秀樹: 内軟骨性骨形成と骨折治癒過程における BMP の機能. BMP 研究会, 2005 年 7 月 24 日 大阪
 10. 岩井貴男 妻木範行 村井純子 名井陽 吉川秀樹: 低出力超音波刺激とハイドロキシアパタイト多孔体における骨新生. 第 6 回運動器科学研究会, 2005 年 8 月 27, 28 日 静岡県大仁ホテル
 11. 村井純子, 吉川秀樹, 妻木範行: *Rxrb / Col11a2* ローカスにおける CTCF binding stie の同定. 第 6 回運動器科学研究会, 2005 年 8 月 27, 28 日 静岡県大仁ホテル
 12. 岡本美奈, 村井純子, 吉川秀樹, 妻木範行: BMP は内軟骨性骨形成と骨折治癒過程において破骨細胞性骨吸収とリモデリングを促進する. 第 20 回日本整形外科学会基礎学術集会, 2005 年 10 月 20, 21 日 三重県
 13. 村井純子, 岡本美奈, 吉川秀樹, 妻木範行: 軟骨特異的遺伝子発現にかかわる insulator の解明; *Rxrb / Col11a2* locus の解析. 第 20 回日本整形外科学会基礎学術集会, 2005 年 10 月 20, 21 日 三重県
2. 論文発表
1. Tsumaki, N., and Yoshikawa, H.: The role of bone morphogenetic proteins in endochondral bone formation. *Cytokine Growth Factor Rev.*, (2005) 16: 279-285
 2. 村井純子, 吉川秀樹, 妻木範行: 骨・軟骨研究の展開 わかりやすい疾患動物解析①. 分子リウマチ (2005) 2: 231-236
 3. 村井純子, 堀木充, 吉川秀樹, 妻木範行: 骨・軟骨研究の展開 わかりやすい疾患動物解析②. 分子リウマチ (2005) 2: 304-309
 4. 岩井貴男, 妻木範行, 吉川秀樹: BMP s 薬理作用と生理作用 3) 内軟骨性骨化における作用. 臨床分子内分泌学3 日本臨床社, 大阪, (2005) 431-434,
- F. 知的財産の出願・登録状況
該当なし

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

破骨細胞アポトーシスにおける Bcl-2 family の役割に関する研究

分担研究者 田中 栄

所属機関名・職名 東京大学医学部附属病院整形外科 講師

研究要旨 破骨細胞は生理的な骨吸収のみならず、病的な骨破壊においても中心的な役割を果たす細胞である。その寿命は短く、いったん分化すると生体内では2週間程度でアポトーシスによって細胞死にいたる。本研究においてわれわれは破骨細胞の細胞死において Bcl-2 ファミリーが重要な役割を果たしていることを明らかにした。

A. 研究目的

関節リウマチ (rheumatoid arthritis, RA) における骨破壊には破骨細胞による骨吸収が重要な役割を果たしている。破骨細胞は最終分化した増殖能のない細胞であり、一旦分化すると receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) やマクロファージコロニー刺激因子 (M-CSF) などの生存因子が存在しないと速やかに細胞死に至る。破骨細胞の細胞死はアポトーシスによるものであることが報告されているが、その分子メカニズムについてはほとんど明らかになっていないのが現状であるわれわれはこれまでに small G protein である Ras, Rac1 が破骨細胞の生存に重要であり、これらの活性を抑制する dominant negative 型 Ras 遺伝子の導入によって破骨細胞は速やかにアポトーシスに陥ることを明らかにしてきた (Miyazaki et al., J Cell Biol 2000)。また過去の厚生労働省研究班において dominant negative 型 Rac1 変異体の導入によって破骨細胞がアポトーシスに陥ることを明らかにした (Fukuda et al., J Bone Miner Res 2005)。本年の研究班においては破骨細胞アポトーシスにおける Bcl-2 ファミリーの役割に注目して研究をおこなった。

B. 研究方法

Bcl-2 および Bcl-xL のレトロウイルス発現ベクターは pMx-puro (東京大学医科学研究所 北村俊夫教授より供与された) を用いて構築した。破骨細胞前駆細胞への感染は、下記のごとく行った。

①マウス骨髄細胞をマクロファージコロニ

ー刺激因子の存在下で培養

②培養 3 日目にレトロウイルスベクターを感染。その後 puromycin の存在下で 2 日間培養

③感染した細胞を RANKL および M-CSF の存在下で培養し、破骨細胞への分化を誘導

このようにして Bcl-2, Bcl-xL を過剰発現した細胞の survival, activity を検討した。

(倫理面への配慮)

本研究はヒトサンプルを用いるものではないが、候補遺伝子が得られた場合、そのヒト細胞での作用を確認する必要がある。その際、個人情報、その外部への持ち出しを厳重に禁止し、遺伝子解析に使用する検体、試料はコード化し匿名とする。また、生命倫理に関してはこの研究の趣旨を充分説明し提供者の自由意思によるインフォームド・コンセントを取得するものとする。

C. 研究結果

Bcl-2, Bcl-xL を発現した破骨細胞前駆細胞の破骨細胞分化は軽度に促進、あるいはほとんど変化がなかった。一方分化した破骨細胞の生存期間はいずれも著明に延長していた。特に Bcl-xL を発現した細胞は著しい spreading をしめした(図1)。いずれの破骨細胞においても活性化の亢進は認められなかった。

D. 考察

Bcl-2, Bcl-xL などの antiapoptotic Bcl-2 family は血球系の細胞、あるいは神経細胞をはじめとしたさまざまな細胞の survival に関与す

ることが明らかになっている。本研究においてわれわれは、レトロウイルスベクターによる遺伝子導入システムを用いて、Bcl-2, Bcl-xLが、破骨細胞の生存に重要な役割を果たしていることを明らかにした。現在最も使用されている骨粗鬆症治療薬であるビスフォスフォネートは破骨細胞のアポトーシスを誘導して作用することが明らかになっているが、その骨への貯留性、骨代謝の長期間抑制が問題となっており、新たな骨粗鬆症治療薬の開発が望まれている。今後ビスフォスフォネートの代替薬として、Bcl-2 familyをターゲットにした創薬が期待される。

E. 結論

Antiapoptotic Bcl-2 family である Bcl-2, Bcl-xL が破骨細胞の細胞死に重要な役割を果たしていることが明らかになった。今後 Bcl-2 family をターゲットにした骨吸収抑制剤の開発が期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

英文原著・総説

1. Kwak HB, Lee SW, Jin HM, Ha H, Lee SH, Takeshita S, Tanaka S, Kim HM, Kim HH, Lee ZH. Monokine induced by interferon-gamma is induced by receptor activator of nuclear factor \cdot B ligand and involved in osteoclast adhesion and migration. *Blood*. 2005, 105: 2963-2969.
2. Yagishita N, Ohneda K, Amano T, Yamasaki S, Sugiura A, Tsuchimochi K, Shin H, Kawahara K, Ohneda O, Ohta T, Tanaka S, Yamamoto M, Maruyama I, Nishioka K, Fukamizu A, Nakajima T. Essential Role of Synoviolin in Embryogenesis. *J Biol Chem* 2005, 280:7909-7916.
3. Gohda J, Akiyama T, Koga T, Takayanagi H, Tanaka S, Inoue JI. RANK-mediated amplification of TRAF6 signaling leads to NFATc1 induction during osteoclastogenesis. *Embo J* 2005, 24:790-799.
4. Hsia, DA, Lim S-T, Bernard-Trifilo JA, Mitra, SK, Tanaka S, den Hertog, J, Streblov, DN, Ilic Z D, Ginsberg, MH, Schlaepfer DD. Integrin α 4 β 1

promotes FAK-independent cell motility via α 4 cytoplasmic domain-specific activation of Src. *Mol Cell Biol* 2005, 25:9700-9712.

5. Fukuda A, Hikita A, Wakeyama H, Akiyama T, Oda H, Nakamura K, Tanaka S. Regulation of osteoclast apoptosis and motility by small GTPase binding protein Rac1. *J Bone Miner Res* 2005, 20:2245-2253.
6. Hikita A, Kadono Y, Chikuda H, Fukuda A, Wakeyama H, Yasuda H, Nakamura K, Oda H, Miyazaki T, Tanaka S. Identification of an alternatively spliced variant of CAPRI as a possible regulator of RANKL shedding. *J Biol Chem* 2005, 280: 41700-41706.
7. Hu K, Yang J, Tanaka S, Gonias SL, Mars WM, Liu Y. Tissue-type plasminogen activator acts as a cytokine that triggers intracellular signal transduction and induces matrix metalloproteinase-9 gene expression. *J Biol Chem* 2005, 281: 2120-2127.
8. Tanaka S. Intracellular signal transduction pathways: good therapeutic targets for joint destruction in rheumatoid arthritis. *Mod Rheumatology* 2005, 15:19-27.
9. Akiyama T, Miyazaki T, Bouillet P, Nakamura K, Strasser A, Tanaka S. In vitro and in vivo assays for osteoclast apoptosis. *Biol. Proced. Online* 2005, 7: 48-59.
10. Tanaka S, Takahashi N, Nakamura K, Suda, T. Role of RANKL in physiological and pathological bone resorption and therapeutics targeting RANKL-RANK signaling system. *Immunological Review* 2005, 108:30-49.
11. Tanaka S, Suzuki H, Yamauchi H, Nakamura I and Nakamura K. Signal transduction pathways of calcitonin/calcitonin receptor regulating cytoskeletal organization and bone-resorbing activity of osteoclasts. *Cellular and Molecular Biology* 2005 in press
12. Ogata T, Yamamoto S, Nakamura K and Tanaka S. Signaling Axis in Proliferation and Differentiation of Schwann Cell. *Mol Neurobiol*. 2006, 33:51-62.
13. Tanaka S, Miyazaki T, Fukuda A, Akiyama

T, Kadono Y, Wakeyama H, Kono S, Hoshikawa S, Nakamura M, Ohshima Y, Hikita A, Nakamura K. Molecular mechanism of the life and death of the osteoclast. Ann N Y Acad Sci in press.

和文原著・総説

1. 田中 栄「骨代謝—Bone Cell Biology—」SERM 1:44-51, 2005.
2. 太田博明、田中 栄、加藤茂明、野崎雅裕「座談会 SERMとは」SERM1:107-121, 2005.
3. 疋田温彦、田中 栄「関節リウマチの成因と病態生理 概論的事項 破骨細胞と軟骨・骨破壊機構」日本臨床Vol 63, Supple 1:84-86, 2005.
4. 泉 亮良、田中 栄「RAの主な整形外科手術と手術を勧めるタイミング—適応と有効性—」Medical Practice 22:487-492, 2005.
5. 田中 栄「口が語る性差—口腔所見の性差から全身を診る— 第7回 骨粗鬆症の病態と新しい治療法」性差と医療 2:767-773, 2005
6. 田中 栄「RANKLと骨破壊」炎症と免疫 13:435-440, 2005.
7. 田中 栄「RANKLワクチンによる新骨代謝疾患治療」Clinical Calcium15:1160-1164, 2005
8. 山田浩司、田中 栄「人工膝関節術後感染症の治療戦略」リウマチ科 33:595-602, 2005
9. 中村正樹、田中 栄「骨侵食の機序」日本臨床63:1571-1573, 2005.
10. 十字琢夫、田中 栄「RANKLワクチン」日本臨床63:1666-1670, 2005.
11. 田中 栄「骨代謝—Bone Cell Biology—」SERM 2:42-47, 2005.
12. 田中 栄「Osteoimmunology 特集にあたって」The Bone 19:641-642, 2005.
13. 分山秀敏 田中 栄「関節リウマチの骨破壊と破骨細胞」骨研究がわかる
14. 高柳 広編 羊土社 pp73-79, 2005
15. 田中 栄「破骨細胞アポトーシスの分子機構」臨床免疫 44:612-614, 2005.

国際会議招待講演

1. A New York Academy of Sciences Meeting “Skeletal development and remodeling in health, disease & aging”

(2005.5.18-21) New York: Session I, BONE CELL FORMATION AND FATE “Regulation of the life and death of the osteoclast”

2. 2nd Asian Osteoporosis Forum (2005.9.3-4) Tokyo. Session 3: Bone & Other Disease States “Rheumatoid Arthritis and Bone”

3. 2nd Meeting of bone biology forum (2005.11.18-19) Fuji, Session VI “Regulation of the life and death of the osteoclast”

国内学会発表・講演(筆頭発表のみ)

1. 第2回大阪 SERM 学術セミナー (2005.5.26)大阪 「骨粗鬆症治療の新世紀」
2. 第37回日本結合組織学会学術集会 (2005.5.27)富山 特別講演2「関節リウマチによる骨関節破壊の分子メカニズム」
3. 相楽・綴喜医師会学術講演会 (2005.6.4)京都 「新しい骨粗鬆症治療戦略」
4. 第43回 聖マリアンナ医科大学難治研センター大学院セミナー「骨破壊をターゲットにした骨代謝疾患治療戦略」 (2005.6.2)川崎
5. 竜ヶ崎市・牛久市医師会講演会 (2005.6.7)龍ヶ崎 「骨粗鬆症治療の新世紀」
6. 神奈川県央地区学術講演会 (2005.6.10)相模原 「骨粗鬆症治療の新世紀」
7. SERM 学術講演会 (2005.6.24)前橋 「骨粗鬆症治療の新世紀」
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17年度 第1回会議 研究成果報告会 (2005.7.2)京都 「マウス骨壊死モデルの解析」
9. 第5回臨床骨代謝フォーラム (2005.7.9)東京「関節リウマチにおける骨破壊の分子メカニズム」
10. 第23回 日本骨代謝学会学術集会 (2005.7.21-23)大阪 イブニングセミナー2 「新しい骨粗鬆所治療薬とその作用機序」
11. 中弘南黒臨床整形外科医会学術講演会 (2005.10.7)弘前「骨吸収抑制剤を中心とした骨粗鬆症治療体系」

12. Bone & Joint Research Club～第2回 骨と関節の代謝調節を考える基礎の会～(2005.10.8-9)かづさ 特別セッション:【 関節疾患克服に向けての分子生物学的アプローチ 】「骨破壊の分子メカニズムと新しい治療戦略」
 13. 第33回 臨床免疫学会総会 ランチオン教育講演 (2005.10.29) 京都 「骨破壊をターゲットにした関節リウマチの治療戦略」
 14. 第11回 埼玉県骨粗鬆症研究会 (2005.11.5)さいたま市 研修特別講演「骨粗鬆症の新しい治療」
 15. 第33回 硬組織セミナー 東京医科歯科大学硬組織薬理学分野 大学院特別講義(2005.11.8)「関節リウマチの病因と病態のメカニズム」
 16. 第33回 日本リウマチ・関節外科学会(2005.11.11)品川 ワークショップ 2 関節リウマチ治療における骨・関節破壊抑制の最新知見「関節リウマチにおける骨破壊の分子メカニズム」
 17. 第48回 山口県臨床整形外科医会(2005.11.17) 山口 特別講演 I「骨粗鬆症治療の新世紀」
 18. 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17年度 第2回 会議 研究成果報告会(2005.12.3) 京都 「マウス骨壊死モデルの解析 第3報」
 19. 第10回 骨代謝セミナー(2005.12.22) 東京 「関節リウマチにおける骨破壊のメカニズムと治療戦略」
 20. 第6回 熊本骨折セミナー学術講演会(2006.1.7)熊本 特別講演④「新しい骨粗鬆症治療薬とその作用機序」
 21. 第9回 東北リウマチ医の会(2006.1.22)盛岡 特別講演「関節リウマチにおける骨破壊のメカニズム」
 22. 第1回 岡山運動器疾患研究会(2006.2.1)岡山 特別講演「関節リウマチにおける骨破壊メカニズム」
 23. 第10回 臨床応用を目指した三次元臓器造形研究会(2006.2.4)東京 「関節外科領域における3次元造形応用」
 24. Stryker CAOS forum 2006(2006.2.5)京都”TKA with navigation support”
 25. Evista Web Conference (2006.2.16)東京 「骨粗鬆症治療剤をどのように選択すべきか？」
 26. 静岡東部脊椎・骨代謝カンファレンス(2006.2.23)三島 特別講演「骨吸収抑制剤を中心とした新しい骨粗鬆症治療体系」
 27. 厚生労働研究 「フッ化物応用による歯科疾患の予防技術評価に関する総合的研究」 合同公開シンポジウム(2006.3.3)「MAP キナーゼ系の石灰化に対する役割」
- G. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。) なし

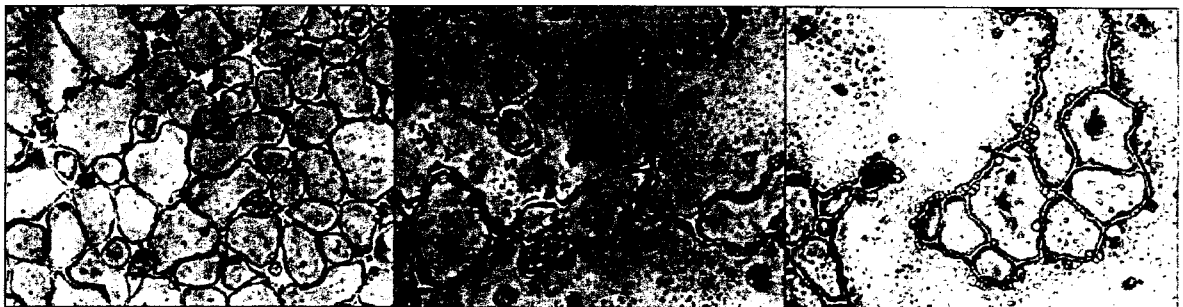


図1 : Bcl-xL 発現による破骨細胞の形態変化。培養後 A:0 時間 B:24 時間 C:48 時間。

分担研究報告書

硬組織形成における MMP・ADAM の役割

分担研究者：千葉 一裕 慶應義塾大学医学部整形外科 助教授

研究協力者：高石 官成 慶應義塾大学医学部整形外科 助手

堀内 圭輔 慶應義塾大学医学部整形外科 助手

研究要旨：硬組織形成における MMP・ADAM の役割についてノックアウトマウス (KO) を用いて解析した。MMP-13KO 由来骨芽細胞は可溶性 RANKL の放出が低下し、共存培養で形成される破骨細胞は大きく広がらず吸収窩形成活性が低下していた。MMP-9 と MMP-13 のダブル KO では成長軟骨板における血管侵入が障害され、四肢短縮型の骨硬化症を呈した。ADAM17、ADAM19KO は心奇形のため生後間もなく死亡したため、硬組織における表現型は不明であった。ADAM8、ADAM9、ADAM12、ADAM15KO、および ADAM9&15 ダブル KO、ADAM9 & 12&15 トリプル KO は生理的な条件下において明らかな表現系を認めなかった。MMP は硬組織形成においてマトリックスからの可溶性リガンドの遊離活性化、ADAM は膜型シグナル分子の shedding という作用が示唆されている。軟骨性骨原基の吸収と血管侵入、破骨細胞の分化・成熟・骨吸収能、骨髄微少環境の維持など、各ステップにおける MMP・ADAM ファミリーの作用機序をひとつひとつ解析することで、組織修復や関節炎といった病態下における役割が明らかになると考えられた。

A. 研究目的

慢性関節リウマチの病態が分子レベルで解明され、標的シグナルを抑制する治療法の開発が進み、さまざまな生物学的製剤が臨床応用できるようになっている。マトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) は細胞外マトリックス分解酵素として知られているが、単に組織のリモデリングをおこなうだけでなく膜型シグナル分子の shedding、可溶性リガンドの活性化、受容体の機能調節など生体内においてさまざまな作用を持つことが明らかになってきた。そこで、炎症性骨破壊の治療薬開発のターゲットとなる MMP、ADAM ファミリー分子を同定すべく、同遺伝子のノックアウトマウスを作製し、その表現型からまず硬組織形成における役割についてシグナルの調節という新規作用を中心に解析した。

B. 研究方法

MMP-13KO は遺伝子座に d2EGFP と pGKNeo をノッ

クインし作成した。生殖系列に乗った 3 系統を C57BL6 にバッククロスし、MMP-9KO (ジャクソン研究所より分譲) との交配によって、両遺伝子を欠損するダブル KO を作出し、胎生期の骨モデリングおよび出生後の骨リモデリングを組織学的に検討した。活性型ビタミン D3+PGE2 刺激下にてカルバリア由来骨芽細胞と骨髄細胞の共存培養をおこない、膜型シグナル分子の shedding を検討した。さらに、硬組織において発現がみられる ADAM ファミリーのうち、ADAM8、ADAM9、ADAM12、ADAM15、ADAM17、ADAM19 について KO マウスを相同組み換えにより作成し、それぞれを交配しダブルまたはトリプル KO の表現型を解析した。(倫理面への配慮) 慶應義塾大学の組み換え DNA 委員会および実験動物に関する規則にそって計画し遂行した。

C. 研究結果

MMP-13KO 由来骨芽細胞は可溶性 RANKL の放出が低下し、共存培養で形成される破骨細胞は大きく

広がらず吸収窩形成活性が低下していた。この小型のTRAP陽性細胞はTUNEL陽性で、NFATc1の核内移行がみられず、可溶性RANKL50ng/mlの添加で形態が回復した。リコンビナントRANKLはMMP-13と試験管内でincubationするとstalk regionで25-28 kDaに切断されたが、MMP-9では切断できなかった。MMP-9&MMP-13ダブルKOでは、胎生期の血管侵入が相乗的に障害され、軟骨性骨原基の吸収不全により一次骨化が遅延していた。出生後は二次骨化中心での血管侵入がみられず、骨軟骨移行部でTRAP陽性細胞が増加するにもかかわらず軟骨マトリックスの蓄積と肥大軟骨細胞層延長が生じ四肢短縮を呈した。また加齢にともない二次海綿骨の骨梁数増加、骨梁幅増大、骨髓腔狭小化がすすみ大理石骨病様の組織像となり、脾臓においてvWF陽性の巨核球の数が増加していた。一方、ADAM17、ADAM19KOは心奇形のため生後間もなく死亡したが、ADAM8、ADAM9、ADAM12、ADAM15KO、およびADAM9&15ダブルKO、ADAM9&12&15トリプルKOは生理的な条件下において明らかな表現系を認めなかった。

D. 考察

これらMMP、ADAM遺伝子KOの表現型から、MMP-9とMMP-13が胎生期の内軟骨性骨化におけるマトリックス改変と血管侵入に相乗的に関与していることが明らかになった。MMP-9KOの表現型は軟骨マトリックスにトラップされているヘパリン結合型VEGF放出の障害によるものと推測されている。膜型RANKLは骨芽細胞のみならず肥大軟骨細胞にも発現すると考えられており、今回の結果からMMP-9ではなくMMP-13によってsheddingを受けることで、軟骨吸収過程における血管侵入および破骨細胞、破軟骨細胞形成にparacrineに働く可能性がある。一方、ADAMファミリーのうちADAM17は胎生致死のため表現型が不明であったが、過去の報告から胎生期の軟骨性骨原基への血管侵入の関与が示唆されている。そこで、ADAM17コンディショナルKOの作製と平行して、MMP-13およびADAM17をターゲットに炎症性骨破壊における特定の標的シグナルを調節する新規選択的阻害剤の開発に着手している。

E. 結論

内軟骨性骨化における骨モデリングにはMMP-9とMMP-13が相乗的に作用し、MMP-13は膜型RANKLをsheddingすることで、血管侵入および破骨細胞形成に関与する可能性が示唆された。ADAM8、ADAM9、ADAM12、ADAM15KOは表現型がみられず、ADAM17、ADAM19KOは致死性であるため硬組織における表現型は不明であった。

F. 健康危険情報

問題なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Horiuchi K, Zhou HM, Kelly K, Manova K, Blobel CP. Evaluation of the contributions of ADAMs 9, 12, 15, 17, and 19 to heart development and ectodomain shedding of neuregulins beta1 and beta2. *Dev Biol.* 2005 Jul 15;283(2):459-71.

2) Kelly K, Hutchinson G, Nebenius-Oosthuizen D, Smith AJ, Bartsch JW, Horiuchi K, Rittger A, Manova K, Docherty AJ, Blobel CP. Metalloprotease-disintegrin ADAM8: expression analysis and targeted deletion in mice. *Dev Dyn.* 2005 Jan;232(1):221-31.

2. 学会発表：なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

予定していない。

関節リウマチの先端的治療に関する研究

中島 利博

聖マリアンナ医科大学 難病治療研究センター ゲノム医科学研究部門 教授

研究要旨

われわれは、関節リウマチ（Rheumatoid arthritis: RA）革新的治療法の開発を目指し、「なぜ滑膜細胞は過増殖するのか」という着眼点から研究を推進してきた。その過程で、滑膜細胞の増殖をつかさどる分子「シノビオリン（Synoviolin）」の発見に成功し、下記に示す研究成果を得た¹⁾。

1. シノビオリンは小胞体関連蛋白分解系に関わる新規 E3 ユビキチンリガーゼである。
2. シノビオリンは RA 患者の滑膜組織・培養滑膜細胞で過剰に発現している。
3. シノビオリン遺伝子過剰発現マウスは、滑膜の増生、骨・軟骨破壊といった RA に酷似した関節症の症状を示す。
4. シノビオリン遺伝子を半分に減らしたマウス（シノビオリン遺伝子ヘテロ欠損マウス）にコラーゲン誘導関節炎を適応したところ、関節炎の惹起に対し強い抵抗性を示した。

これらの結果は、シノビオリンの発現量が関節炎/関節症の発症と重症度に関与することを示している。この背景のもと、昨年より本研究班では、シノビオリン遺伝子の発現制御機構の解明を試み下記に示す研究成果を得た²⁾。

5. シノビオリンの転写活性化に重要なプロモーター上のコアエレメント EBS (Ets binding site) の決定。
6. EBS に結合する転写複合体の同定。
7. EBS デコイ核酸による RA 滑膜細胞増殖の制御。

以上 1~7 に示す結果にもとづいたシノビオリンの“量”の制御により、RA の治療的展開が可能であることが示唆される。そこで本年度は、シノビオリンの生物学的意義の検討に加え、その量的制御法の安全域の確立のため、シノビオリン欠損マウス (syno^{-/-}) を用いた解析を行った。

A. 研究目的

シノビオリンの量的制御による RA 治療の可能性を論理的・科学的に裏付ける (Proof of Concept: POC) ことを目的とする。

B. 研究方法

①syno^{-/-}の作出

シノビオリン遺伝子ヘテロ欠損マウス (syno^{+/-}) 同士を交配させ、得られた産仔および胎仔の尾もしくは羊膜を用いて、サザンブロッティング法もしくは PCR 法にて遺伝子型を同定した。

②syno^{-/-}の解析

野生型・syno^{+/-}・syno^{-/-}各遺伝子型マウスのパラフィン標本を作製し HE 染色を行い、組織学的検討を行った。

③造血能に関する検討

各遺伝子型由来造血幹細胞を用いて、それぞれの造血能を検討した。さらにパラフィン標本を用いて、造血のマーカー分子の免疫染色を行った (筑波大学 分子情報生体制御医学専攻 分子発生生物学 山本雅之教授らとの共同研究による)。

④マウス胎仔由来線維芽細胞 (Mouse embryonic fibroblast: MEFs) を用いた検討

各遺伝子型の 12.5 日齢胎仔より MEFs を採取し、細胞生物学的検討を行った。

⑤倫理面への配慮

動物実験において、動物組織を採取する場合には、文部科学省・動物実験指針および聖マリアンナ医科大学大学院・実験動物飼育管理研究施設 動物実験指針にしたがい、可能な限り麻酔下で行い実験動物に苦痛を与えないように配慮した。さらに、研究に使用した動物を処分する際は、必ず安楽死（過量の麻酔薬投与または頸椎脱臼等）させるよう十分に配慮した。

⑥遺伝子組換え実験

遺伝子組換え実験は、文部科学省が定めた指針および聖マリアンナ医科大学遺伝子組換え安全委員会が定めた指針にしたがい実施した。さらに本研究を含む研究の実施は、聖マリアンナ医科大学遺伝子組換え安全委員会により承認されている。

C. 研究結果

(1) *syno*^{-/-}は13.5日齢までに致死となる。

これまでに報告した *syno*^{+/-} 同士を交配させ、得られた産仔 (P0) の遺伝子型を解析した結果、P0 では *syno*^{-/-} が得られなかった。次に10.5日齢から18.5日齢の胎仔を用いて同様に解析した結果、11.5日齢では *syno*^{-/-} は大多数得られたにもかかわらず (88.9%)、13.5日齢ではごくわずかの生存しか認められなかった (28.6%)。このことから *syno*^{-/-} は13.5日齢までに致死となることが明らかとなった³⁾。

(2) *syno*^{-/-} の致死の原因は肝臓の異常による貧血である。

正常なマウスの発生において *syno*^{-/-} が致死となる時期は、造血を営む場が卵黄嚢（一次造血）から胎仔肝臓（二次造血）へと移行する時期であり、これまでの報告からこの時期に致死となるマウスは造血系の障害により貧血・致死となるものが圧倒的に多い。そこで、*syno*^{-/-} の造血の状態を検討したところ、*syno*^{-/-} では野生型に比べ赤芽球数が減少しており、貧血を呈していることが明らかとなった。さらに、組織免疫染色による各造血マーカー分子の発現検討の結果により、*syno*^{-/-} の貧血は二次造血の異常に起因することを証明した³⁾。

次に、貧血の原因について詳細な解析を行った結果、*syno*^{-/-} 由来造血幹細胞の *in vitro* での赤芽球分化能は障害されておらず、

むしろ造血を行う場である肝臓でのアポトーシスの亢進により二次造血が障害されていることを明らかとした³⁾。

(3) *syno*^{-/-} MEFs は小胞体ストレスに対し感受性を示す。

syno^{-/-} 胎仔肝で亢進していたアポトーシスがどのような刺激によるものかを MEFs を用いて検討した結果、*syno*^{-/-} MEFs では Fas などの添加によっては、アポトーシス誘導能を示さなかったにもかかわらず、小胞体ストレスを負荷する薬剤を添加した場合においてのみアポトーシス誘導能を示すことが明らかとなった³⁾。シノビオリンは小胞体ストレスに応答する機構である ERAD (Endoplasmic Reticulum associated degradation) において機能する E3 ユビキチンリガーゼであるが^{1,4,6)}、もう1つの小胞体ストレス応答機構である UPR (Unfolded protein response) は *syno*^{-/-} では正常に機能していることを示した³⁾。以上のことから、*syno*^{-/-} では小胞体ストレス応答機構のうち ERAD のみが破綻することにより小胞体ストレスに対し感受性を示し、肝細胞でのアポトーシスを促した結果、貧血・致死となったことが明らかとなった。

D. 考察

上記の結果より、*syno*^{-/-} は二次造血の異常による貧血で胎生致死となることが明らかとなった。またこれは赤芽球自体の分化異常によるものではなく、この時期に造血を行うナース細胞での特異的なアポトーシスの亢進によるものであるということを証明した³⁾。この結果を考察すると、「胎仔の発生」と「RA」という、一見すると全くその関連性が想定できない2つの現象が、実は共通性をもつのではないかと考えられる。すなわちこれらの事象を結ぶキーワードとは、「アポトーシス」と「ナーシング」である。前者に関してはこれまでの研究で、Fas/FasL システムの抑制が滑膜増殖をもたらす RA の発症に関与すると報告し、RA に対する抗 Fas 抗体の使用という画期的治療法が臨床応用も間近になっている (Arthritis Rheum 1995)。また後者に関しては、越智隆弘先生により、RA 患者の骨髄および滑膜を構成する間質細胞が特異的な

ース細胞様機能によって増殖支持能を保有するという報告がなされている (Rheumatology 1999)。したがって *syno*^{-/-}ではアポトーシスが亢進し、血球分化を支えるナーシング機能が低下することとは対照的に、シノビオリンが過剰に発現している RA 滑膜細胞では、アポトーシスが抑制され、血球細胞を抱き込んだナーシング機能が亢進する。このようにシノビオリンを軸に考えれば、*syno*^{-/-}と RA、いいかえれば *syno*^{-/-}の造血支持細胞と滑膜細胞とは両極に位置する存在であるといえる。

E. 結論

syno^{-/-}の解析から、シノビオリンはアポトーシスとナーシングに広くかかわることが明らかとなった。今後、これらの知見をシノビオリン量的制御による RA 治療の開発に有意義に利用できることが明らかとなった。

F. 健康危惧情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Amano T, *et al.* "Synoviolin/Hrd1, an E3 ubiquitin ligase, as a novel pathogenic factor for arthropathy" *Genes Dev* 17: 2436-2449 (2003)
2. Tsuchimochi K, *et al.* "Identification of a Crucial Site for Synoviolin Expression." *Mol Cell Biol.* 25: 7344-56 (2005)
3. Yagishita N, *et al.* "Essential Role of Synoviolin in Embryogenesis" *J Biol Chem* 280:7909-7916 (2005)
4. Yagishita N, *et al.* "Role of synoviolin in rheumatoid arthritis: possible clinical relevance" *Future Rheumatol* 1:31-36 (2006)
5. Yamasaki S, *et al.* "Resistance to endoplasmic reticulum stress is an acquired cellular characteristic of rheumatoid synovial cells" *International Journal of Molecular Medicine* in pres 2006
6. Yamasaki S, *et al.* "Rheumatoid arthritis as a hyper-endoplasmic reticulum-associated degradation disease" *Arthritis Res Ther* 7: 181-186 (2005)
7. Sato T, *et al.* "Comparative Analysis of Gene Expression Profiles in Intact Versus

Damaged Regions of Human Osteoarthritic Cartilage" *Arthritis Rheum* 54: 808-817 (2006)

8. Aratani S, *et al.* "The nuclear import of RNA helicase A is mediated by importin- α 3" *Biochem Biophys Res Commun* 340:125-133 (2006)
9. Fujita H, *et al.* "Relevance of nuclear localization and functions of RNA helicase A" *Int J Mol Med* 15:555-560 (2005)

2. 学会発表

1. Nakajima T **ACR2005** "Novel Factor in Synovial Hyperplasia" SanDiego, California 2005/11/12-17
2. Nakajima T **GARN MEETING 2005** "Impact of Synoviolin in Rheumatology and Developmental Biology" Vienna, Austria 2005/9/15-18
3. Nakajima T **EULAR2005** "Lesson from Rheumatoid Synovial cells -What Synoviolin tells us?-" Vienna, Austria 2005/6/8-11
4. Yagishita N *et al.* **JCR2005 (International)** "Lesson from Rheumatoid Synovial cells -What Synoviolin tells us?-" Yokohama, Japan 2005/4/17-21

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
特にありません。
2. 実用新案登録
特にありません。
3. その他
特にありません。

筋骨格の痛みに関する疫学的調査

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: 健康診断受診者約 5000 人を対象にした質問票調査をおこない、筋骨格の痛みの有訴率、QOL に対する影響、治療の割合等を検討した。30～69 歳の男女において、筋骨格の痛みの有訴率は男性 44.2%、女性 50.3%であり、部位別にみると、首・肩、腰でとくに高かった。痛みによる生活の支障は男性 9.2%、女性 12.0%にみられた。痛みがあるほど生活の支障があるほど QOL が低かったが、痛みの治療の割合は男性 15.7%、女性 18.6%であり、生活の支障がある痛みにおいても男性 31.4%、女性 37.4%にすぎなかった。QOL の維持向上を目指して、筋骨格系疾患に対する取り組みが期待される。

A. 研究目的

WHO は 2000 年より筋骨格系疾患に関する世界的プロジェクト—Bone and Joint Decade (BJD; 運動器の 10 年)を開始した。筋骨格系疾患は痛みや可動制限をとめない、日常生活を大きく妨げる原因になる。しかし、これまであまり注目されておらず、現状さえも十分把握されていない。そこで、まず、世界各国における現状の調査が必要である[1]。

日本の BJD に関する研究班(主任研究者 吉田勝美)は、2003 年 10 月、健康診断受診者約 3000 人を対象にした質問票調査をおこない、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[2-5]。そこで、詳細を明らかにするために、質問項目を追加して、調査地域を拡大して、あらためて質問票調査をおこない、筋骨格の痛みの有訴率、QOL に対する影響、治療の割合等を検討した。

B. 研究方法

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、健康診断受診者(1 施設あたり 1000 名)を対象にした質問票調査を実施した。質問票は以下のような 3 部構成である。

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(以下、生活の支障)の有無(図 1)

③QOL

日本語版 EuroQol (EQ-5D)[6]

なお、本調査については、聖マリアンナ医科大学生命倫理委員会の承認を受けた。

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 4926 名を解析した。

● 筋骨格の痛みの有訴率

筋骨格の痛みについて全体および部位別(首・肩、腕・手、腰、股関節、膝関節、足)の有訴率を計算して、性、年齢、BMI(～18.5、18.6～24.9、25.0～)、普段の生活の姿勢の関係を調べた(χ^2 乗検定)。

● 筋骨格の痛みの QOL に対する影響

筋骨格の痛みの有無と生活の支障の有無により EuroQol の各ドメインおよびスコアを比較した(χ^2 乗検定および分散分析)。

厚生労働科学研究補助金 分担研究報告書

● 痛みの治療の割合

筋骨格の痛みについて全体および部位別(首・肩、腕・手、腰、股関節、膝関節、足)の治療の割合を計算して、性、年齢、普段の生活の姿勢、生活の支障、痛みの部位数の関係を調べた(χ^2 乗検定)。さらに、治療の有無によりEuroQolの各ドメインおよびスコアを比較した(χ^2 乗検定および分散分析)。

C. 研究結果

表1は筋骨格の痛みの有訴率である。筋骨格の痛みの有訴率は男性44.2%、女性50.3%であり、性差を有意に認めた($p < 0.001$)。男女とも年齢の関係(高年齢 > 低年齢)、普段の生活の姿勢の関係(肉体的労働 > 立ち仕事 > 座り仕事)を有意に認めた。痛みによる生活の支障は男性9.2%、女性12.0%にみられた。

筋骨格の痛みは複数の領域にわたることも少なくなく、29領域のうち2領域の痛みは男性10.9%、女性11.9%、3領域以上の痛みは男性11.9%、女性18.1%にみられた。

表2は筋骨格の痛みの部位別の有訴率である。筋骨格の痛みの部位別の有訴率は男女とも1位 首・肩、2位 腰であり、ほかの部位を大きく凌いだ。性差は腰以外で有意に認めた($p < 0.01$)。年齢の関係は腕・手、腰、股関節(女性)、膝関節、足、BMIの関係は膝関節(女性)、普段の仕事の姿勢の関係は腕・手(女性)、腰で有意に認めた。

表3は筋骨格の痛みとEuroQolの関係である。EuroQolのスコアは男女とも痛みなし > 生活の支障のない痛み > 生活の支障のある痛みの順であり、痛みがあるほど生活の支障があるほどQOLが低かった。

表4は痛みの治療の割合である。痛みの治療の割合は男性15.7%、女性18.6%であり、生活の支障がある痛みにおいても男性31.4%、女性37.4%にすぎなかった。

表5は痛みの部位別の治療の割合である。治療の割合が5割を超えたものは男性の足の生活の支障がある痛みだけにすぎなかった。

表6は痛みの治療の有無とEuroQolの関係である。EuroQolのスコアは治療なし > 治療ありであり、治療ありのほうが治療なしよりもQOL

が低かった。

D. 考察

健康診断受診者約5000人を対象にした質問票調査から、30~69歳の男女において、筋骨格の痛みの有訴者はほぼ半数におよぶことが明らかにされた。この数値を平成16年10月1日現在推計人口[7]にあてはめると、日本の筋骨格の痛みの有訴率は男性44.4%、女性50.7%となる。平成12年第5次循環器疾患基礎調査[8]によれば、高血圧の有病率は33.4%、高コレステロール血症の有病率は31.5%である。また、平成14年糖尿病実態調査[9]によれば、糖尿病が強く疑われる人は9.0%である。健診受診者を対象にした選択バイアスを考慮しても、筋骨格の痛みの有訴率はこれら有病率を大きく超えると考えられた。

今回の調査の対象は健診受診者であり、重度の障害(寝たきり、歩行困難等)を有する者を含まない。それにも係らず、筋骨格の痛みとEuroQolの関係を有意に認めた。ドメイン別にみると、「痛み/不快感」にかぎらず、「移動」「身の回りの管理」「普段の活動」「不安/ふさぎ込み」のすべてで有意差がみられ、筋骨格の痛みがQOL全般にひろく影響することが明らかにされた。

その一方、痛みの治療の割合は高くなく、生活の支障がある痛みにおいても4割以下にすぎなかった。BJDの目的でもあるが、筋骨格系疾患によるQOLの低下を防止するために、一般住民に対する啓蒙活動を通じて、筋骨格系疾患の重要性を知らしめ、セルフケアの自覚をうながす必要があると考えられた。今回の調査において治療ありのほうが治療なしよりもQOLが低かったが、治療ありのほうが治療なしよりも重症であるためか、治療の効果が十分得られていないためか、わからない。後者であるならば、医療従事者に対する啓蒙活動や効果的な治療法の開発もまた今後の課題にあげられる。

現在の疾病予防対策の中心は生活習慣病、とくに悪性腫瘍や循環器疾患のような致死性疾患におかれている。しかし、筋骨格系疾患は潜在患者数が多く、しかもQOLの低下の原

厚生労働科学研究補助金
分担研究報告書

因となることから、疾病予防対策のひとつに取り組む必要があると考えられた。

E. 結論

筋骨格の痛みは有訴者数が多く、しかも QOL の低下の原因となる。しかし、実際、治療を受けている者が少ない。QOL の維持向上を目指して、筋骨格系疾患に対する取り組みが期待される。

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エルネス笹岡

参考文献

- [1] Bone and Joint Decade.
<http://www.bonejointdecade.org>
- [2] 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「関節リウマチの疫学、患者の受療動態に関する研究(主任研究者 吉田勝美)」平成 16 年度総括報告書.
<http://mhlw-grants.niph.go.jp>

- [3] Suka M, Yoshida K. Health examinations should expand their scope to musculoskeletal conditions: estimation of burden of musculoskeletal pain on AMHTS population in terms of prevalence and interference with daily activities. *Health Evaluat Promot* 2004;31:563-566.
- [4] Suka M, Yoshida K. Musculoskeletal pain in Japan: prevalence and interference with daily activities. *Modern Rheumatology* 2005;15:41-47.
- [5] Suka M, Yoshida K. Burden of musculoskeletal pain in Japan. *Modern Rheumatology* 2005;15:48-51.
- [6] 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.
- [7] 総務省統計局. 平成 16 年 10 月 1 日現在推計人口.
<http://www.stat.go.jp/data/jinsui/2004np/index.htm>
- [8] 厚生労働省. 平成 12 年第 5 次循環器疾患基礎調査.
http://www.dbtk.mhlw.go.jp/toukei/kouhyo/indexkk_18_1.html
- [9] 厚生労働省. 平成 14 年糖尿病実態調査.
<http://www.mhlw.go.jp/shingi/2004/03/s0318-15.html>

厚生労働科学研究補助金
分担研究報告書

図1 筋骨格の痛みに関する質問票に用いたマネキン図

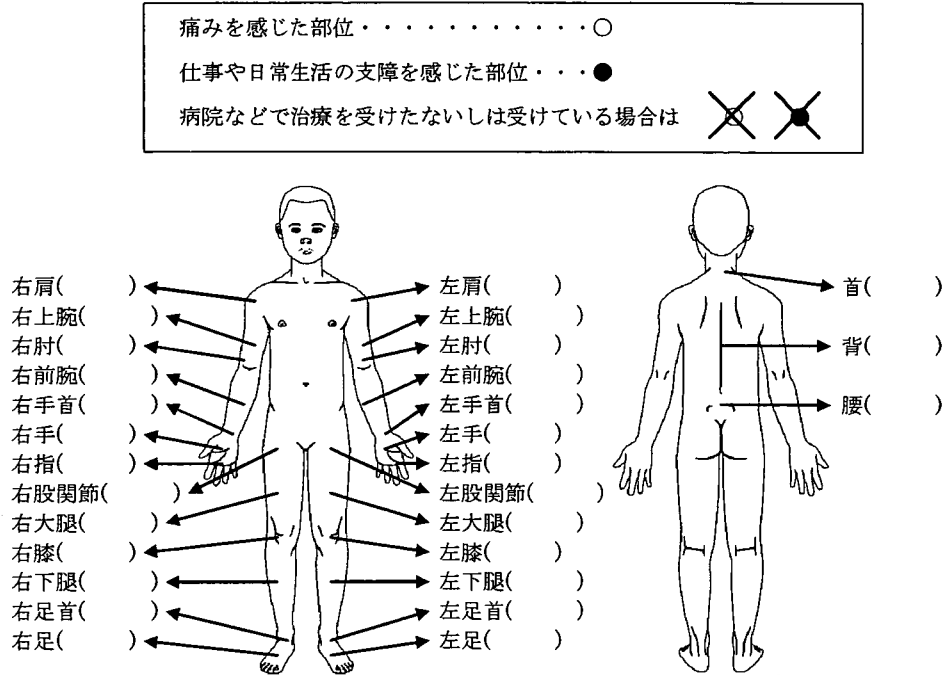


表1 筋骨格の痛みの有訴率

		N	痛み(生活の支障)		
男性	全体	3041	1343	(123)	44.2%
	年齢				
	30-39	518	191	(16)	36.9% ***
	40-49	1116	479	(38)	42.9%
	50-59	1079	501	(52)	46.4%
	60-69	328	172	(17)	52.4%
	BMI				
-18.5	88	43	(7)	48.9%	
18.6-24.9	2056	891	(83)	43.3%	
25.0+	897	409	(33)	45.6%	
姿勢					
座り仕事	1926	829	(78)	43.0% **	
立ち仕事	805	348	(31)	43.2%	
肉体労働	310	166	(14)	53.5%	
女性	全体	1885	949	(114)	50.3%
	年齢				
	30-39	403	171	(15)	42.4% **
	40-49	707	358	(57)	50.6%
	50-59	577	313	(33)	54.2%
	60-69	198	107	(9)	54.0%
	BMI				
-18.5	245	107	(14)	43.7%	
18.6-24.9	1417	729	(88)	51.4%	
25.0+	223	113	(12)	50.7%	
姿勢					
座り仕事	1320	635	(73)	48.1% **	
立ち仕事	494	269	(36)	54.5%	
肉体労働	71	45	(5)	63.4%	

* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001 (χ²乗検定による)

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率(6部位)

	N	首、肩		腕、手		腰	
		痛み(生活の支障)		痛み(生活の支障)		痛み(生活の支障)	
男性 全体	3041	723 (123)	23.8%	217 (38)	7.1%	685 (138)	22.5%
年齢 30-39	518	110 (16)	21.2%	15 (4)	2.9% ***	105 (20)	20.3%
40-49	1116	261 (38)	23.4%	71 (13)	6.4%	259 (54)	23.2%
50-59	1079	275 (52)	25.5%	96 (15)	8.9%	243 (51)	22.5%
60-69	328	77 (17)	23.5%	35 (6)	10.7%	78 (13)	23.8%
BMI -18.5	88	26 (7)	29.5%	7 (1)	8.0%	24 (4)	27.3%
18.6-24.9	2056	485 (83)	23.6%	141 (28)	6.9%	441 (95)	21.4%
25.0+	897	212 (33)	23.6%	69 (9)	7.7%	220 (39)	24.5%
姿勢 座り仕事	1926	448 (78)	23.3%	126 (19)	6.5%	405 (86)	21.0% ***
立ち仕事	805	192 (31)	23.9%	61 (11)	7.6%	174 (27)	21.6%
肉体労働	310	83 (14)	26.8%	30 (8)	9.7%	106 (25)	34.2%
女性 全体	1885	571 (114)	30.3%	189 (39)	10.0%	421 (90)	22.3%
年齢 30-39	403	113 (15)	28.0%	17 (4)	4.2% ***	81 (10)	20.1%
40-49	707	229 (57)	32.4%	80 (19)	11.3%	157 (39)	22.2%
50-59	577	181 (33)	31.4%	71 (11)	12.3%	137 (31)	23.7%
60-69	198	48 (9)	24.2%	21 (5)	10.6%	46 (10)	23.2%
BMI -18.5	245	68 (14)	27.8%	19 (3)	7.8%	52 (7)	21.2%
18.6-24.9	1417	442 (88)	31.2%	146 (29)	10.3%	319 (74)	22.5%
25.0+	223	61 (12)	27.4%	24 (7)	10.8%	50 (9)	22.4%
姿勢 座り仕事	1320	385 (73)	29.2%	111 (24)	8.4% ***	274 (53)	20.8% *
立ち仕事	494	160 (36)	32.4%	62 (12)	12.6%	123 (33)	24.9%
肉体労働	71	26 (5)	36.6%	16 (3)	22.5%	24 (4)	33.8%

	N	股関節		膝関節		足	
		痛み(生活の支障)		痛み(生活の支障)		痛み(生活の支障)	
男性 全体	3041	88 (14)	2.9%	195 (27)	6.4%	188 (32)	6.2%
年齢 30-39	518	10 (2)	1.9%	23 (1)	4.4% *	23 (3)	4.4% *
40-49	1116	30 (2)	2.7%	64 (11)	5.7%	57 (13)	5.1%
50-59	1079	35 (9)	3.2%	79 (13)	7.3%	79 (13)	7.3%
60-69	328	13 (1)	4.0%	29 (2)	8.8%	29 (3)	8.8%
BMI -18.5	88	0 (0)	0.0%	3 (0)	3.4%	3 (1)	3.4%
18.6-24.9	2056	58 (11)	2.8%	129 (15)	6.3%	118 (23)	5.7%
25.0+	897	30 (3)	3.3%	63 (12)	7.0%	67 (8)	7.5%
姿勢 座り仕事	1926	52 (9)	2.7%	27 (16)	1.4%	121 (20)	6.3%
立ち仕事	805	25 (4)	3.1%	55 (8)	6.8%	43 (9)	5.3%
肉体労働	310	11 (1)	3.5%	113 (3)	36.5%	24 (3)	7.7%
女性 全体	1885	86 (17)	4.6%	163 (36)	8.6%	153 (23)	8.1%
年齢 30-39	403	11 (0)	2.7% **	21 (3)	5.2% ***	20 (1)	5.0% ***
40-49	707	26 (8)	3.7%	46 (12)	6.5%	45 (8)	6.4%
50-59	577	33 (7)	5.7%	65 (15)	11.3%	62 (7)	10.7%
60-69	198	16 (2)	8.1%	31 (6)	15.7%	26 (7)	13.1%
BMI -18.5	245	9 (0)	3.7%	15 (2)	6.1% **	13 (0)	5.3%
18.6-24.9	1417	64 (14)	4.5%	117 (28)	8.3%	119 (19)	8.4%
25.0+	223	13 (3)	5.8%	31 (6)	13.9%	21 (4)	9.4%
姿勢 座り仕事	1320	55 (11)	4.2%	105 (23)	8.0%	100 (11)	7.6%
立ち仕事	494	27 (6)	5.5%	49 (10)	9.9%	48 (12)	9.7%
肉体労働	71	4 (0)	5.6%	9 (3)	12.7%	5 (0)	7.0%

* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001(χ²乗検定による)

厚生労働科学研究補助金
分担研究報告書

表3 筋骨格の痛みとEuroQolの関係

	N		痛み					
			なし		生活の支障なし		生活の支障あり	
男性			1698		1039		304	
	ドメイン	移動	問題ない	1688 99.4%	1013 97.5%	278 91.4% ***		
			問題ある	10 0.6%	26 2.5%	26 8.6%		
			寝たきり	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%		
		身の回りの管理	問題ない	1697 99.9%	1036 99.7%	300 98.7% ***		
			問題ある	1 0.1%	3 0.3%	4 1.3%		
			できない	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%		
		普段の活動	問題ない	1690 99.5%	1024 98.6%	288 94.7% ***		
			問題ある	8 0.5%	15 1.4%	15 4.9%		
			できない	0 0.0%	0 0.0%	1 0.3%		
		痛み/不快感	ない	1639 96.5%	731 70.4%	144 47.4% ***		
			中程度	57 3.4%	302 29.1%	149 49.0%		
			ひどい	2 0.1%	6 0.6%	11 3.6%		
		不安/ふさぎ込み	ない	1588 93.5%	944 90.9%	268 88.2% **		
			中程度	108 6.4%	90 8.7%	34 11.2%		
			ひどい	2 0.1%	5 0.5%	2 0.7%		
		スコア	平均(SD)	0.91(0.04)	0.87(0.09)	0.82(0.15)	***	
女性			936		714		235	
	ドメイン	移動	問題ない	927 99.0%	694 97.2%	213 90.6% ***		
			問題ある	9 1.0%	18 2.5%	22 9.4%		
			寝たきり	0 0.0%	2 0.3%	0 0.0%		
		身の回りの管理	問題ない	935 99.9%	712 99.7%	231 98.3% ***		
			問題ある	1 0.1%	0 0.0%	4 1.7%		
			できない	0 0.0%	2 0.3%	0 0.0%		
		普段の活動	問題ない	932 99.6%	701 98.2%	207 88.1% ***		
			問題ある	4 0.4%	10 1.4%	28 11.9%		
			できない	0 0.0%	3 0.4%	0 0.0%		
		痛み/不快感	ない	873 93.3%	406 56.9%	84 35.7% ***		
			中程度	62 6.6%	301 42.2%	141 60.0%		
			ひどい	1 0.1%	7 1.0%	10 4.3%		
		不安/ふさぎ込み	ない	840 89.7%	589 82.5%	190 80.9% ***		
			中程度	94 10.0%	122 17.1%	43 18.3%		
			ひどい	2 0.2%	3 0.4%	2 0.9%		
		スコア	平均(SD)	0.90(0.06)	0.84(0.12)	0.79(0.15)	***	

* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001 (ドメインはχ²乗検定による、スコアは分散分析による)