

関節リウマチの関節破壊予防薬における新たな展開

破骨細胞を標的とした治療薬の開発に向けてー

富山大学大学院医学薬学研究部

杉山 英二

はじめに

関節リウマチ(リウマチ)は、滑膜関節を主座とした慢性の原因不明の炎症性疾患であり、本邦での患者数は約70万人と推定されている。その本体は増殖性滑膜炎であり、炎症性滑膜から産生される多量の炎症性サイトカインが発症、進展に重要な役割を果たしている。臨床的には朝のこわばりや手、手指関節などの小関節の腫脹、疼痛で発症するが、慢性に炎症がつづくると骨、軟骨の不可逆的な破壊をきたし、関節変形により身体機能障害が生じ、日常生活、社会活動に支障をきたす。患者の多くは中年女性であり、その社会的損失はきわめて大きい。現在、多くの抗リウマチ薬が日常診療で使用されているが、関節破壊に対する効果は限られており、骨、軟骨障害の予防薬の開発が望まれている。

リウマチ関節破壊における破骨細胞の重要性

リウマチの関節破壊の特徴は関節局所にみられる骨吸収であり、その吸収部には多数の破骨細胞がみられ、活性化している。破骨細胞は骨を吸収しうる唯一の細胞であること、破骨細胞分化の障害したマウスでは関節炎を誘導しても関節破壊をきたさないことから、破骨細胞がリウマチの骨破壊に中心的な役割を果たしている。破骨細胞は造血幹細胞から分化した単球・マクロファージ系前駆細胞に由来し、その分化には骨芽細胞との接触が必要であるが、1997年から破骨細胞分化抑制因子(osteoprotegerin:OPG)、破骨細胞分化因子(receptor activator of NF- κ B ligand:RANKL)が相次いでクローニングされ、破骨細胞分化の分子機構の研究は大きく進展した。また、RANKLの細胞内シグナル伝達系の解析の結果、NF- κ B, c-Fos, NFATc1が必須転写因子として重要であり、これらの分子が関節破壊予防薬開発のための標的分子になる可能性が高い。

リウマチ関節局所における破骨細胞分化誘導機序

リウマチ関節局所において破骨細胞がどのような刺激を受けて分化、誘導されるか未だ明らかになっていない。滑膜細胞から多量に産生されるTNF α , IL-1, IL-6およびPGE2は破骨細胞の分化、活性化を促進する。いずれもRANKLの発現誘導やRANKL刺激後のシグナル伝達に関わる分子の修飾を介して効果を発揮すると考えられている。一方、

GM-CSF, $IFN\gamma$ は強力に破骨細胞の分化を抑制するため、関節局所で破骨細胞が生じる機序は複雑である。近年、TNF 阻害療法が臨床の場で使用され、大きな治療効果をもたらしている。多くの臨床試験から、TNF の阻害により骨破壊が抑制されること、滑膜炎のコントロールが不十分な患者においても骨破壊予防効果がみられることが明らかになり、 $TNF\alpha$ による破骨細胞分化誘導が関節破壊に深く関連している可能性が高い。しかし、ヒト破骨細胞の誘導における $TNF\alpha$ の作用を検討した報告は少なく、その作用機序も明らかではない。そこで、我々はヒト末梢血単球を用いて、 $TNF\alpha$ によるヒト破骨細胞分化誘導作用について検討した。

TNF α のヒト破骨細胞誘導作用

MACS ビーズ法でヒト単球を分離し、M-CSF 存在下で TNF を加えると象牙切片を

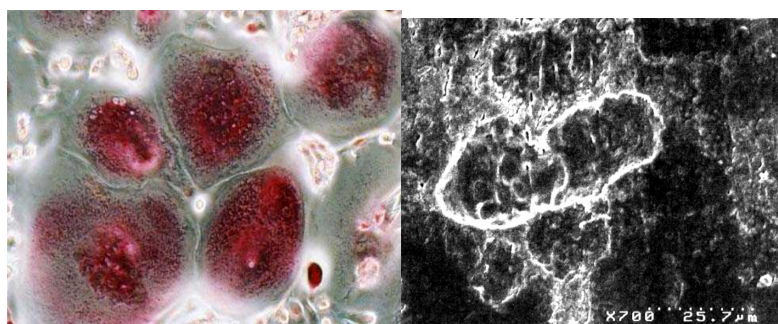


図1 . $TNF\alpha$ による破骨細胞誘導

TRAP 陽性多核細胞 (左) 象牙切片の吸収窩 (右) を示す

を吸収する破骨細胞が誘導された (図1)。 $TNF\alpha$ による破骨細胞の誘導はRANKLのデコイレセプターである osteoprotegerin(OPG)では抑制されず、 TNF はRANKLの存在に関わりなく、直接的にヒト破骨細胞を誘導す

ることが示された。一方、マウス骨髄細胞では $TNF\alpha$ による破骨細胞の誘導はみられず、マウスとヒトでは破骨細胞分化における $TNF\alpha$ の効果が異なる可能性がある。以上より、 $TNF\alpha$ が関節局所で直接破骨細胞を誘導して、関節破壊をもたらす可能性が高く、その阻害薬を明らかにすることは新規関節破壊予防薬の開発につながると考えられる。そこで、 $TNF\alpha$ による破骨細胞分化を抑制する方法について検討した。

抗炎症性サイトカインの破骨細胞分化抑制作用

IL-4 および IL-10 は主にマクロファージに作用して $TNF\alpha$, IL-1 などの炎症性サイトカインを抑制する作用があり、抗炎症性サイトカインに分類される。これらのサイトカインは関節炎モデル動物において関節炎および関節破壊を抑制することが知られている。また我々は IL-4, IL-10 が c-Fos, NFATc1 の発現抑制を介して、破骨細胞の分化を抑制することを報告し、関節破壊抑制薬として臨床応用の可能性を示した。しかし、欧米での臨床試験では、IL-4 の全身投与では関節局所の薬剤の移行が悪いため抗リウマチ作用を認めなかった。我々は IL-4 を関節局所で高発現させるため、ウイルスベクターを用いた遺伝子療法の可能性について検討した。すなわち、ヒト IL-4 遺伝子を組み込ん

だアデノ随伴ウイルス(AAV-IL-4)を作成し、TNF α による破骨細胞分化に対する効果を検討した。AAV-IL-4は破骨細胞の前駆細胞であるヒト単球に効率よく感染し、IL-4の発現誘導を介して、TNF α による破骨細胞誘導を強力に抑制した。これまで、関節リウマチの遺伝子療法が試験的に試みられているが、臨床実用化には至っていない。ウイルスベクターを用いて抗炎症性サイトカインを関節局所に強発現させることにより関節破壊を予防できる可能性がある。

peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) アゴニストの破骨細胞分化抑制作用

TNF 阻害療法は強力な抗リウマチ作用を認めるが、高コストの問題や、結核や重症感染症などの副作用が多いことから、安価で使用しやすい低分子化合物の開発が望まれている。PPAR γ アゴニストは糖尿病薬としてひろく使用されているが、抗炎症作用を有し、マウス動物モデルで関節破壊を抑制することが報告されている。また、破骨細胞分化に対しても抑制効果が報告されている。我々は ciglitazone を用いて TNF α による破骨細胞

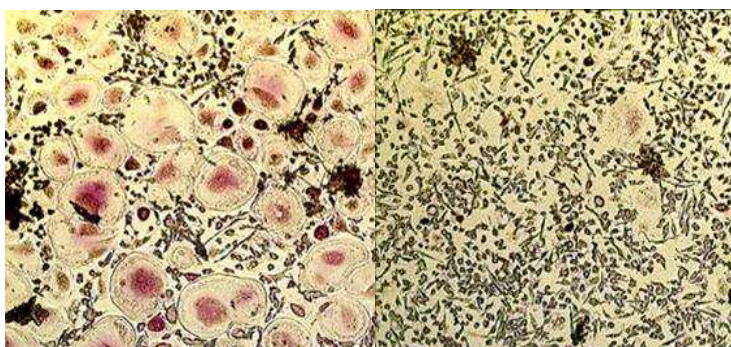


図2 . TNF α による破骨細胞誘導に対する ciglitazone の効果
TNF α (左) TNF α + ciglitazone (右)を示す

誘導に対する効果を検討した。ciglitazone は TNF α による破骨細胞の分化を強力に抑制した(図2)。この抑制機序について検討した結果、破骨細胞分化の必須転写因子である AP-1, NFATc1 の

発現抑制および破骨細胞分化のステップで重要な monocyte chemoattractant protein-1(MCP-1)の発現抑制を介していると考えられた。PPAR γ アゴニストは多彩な作用を有しており、本作用のさらなる研究が関節破壊抑制薬の開発につながる可能性がある。

おわりに

リウマチ医が新規抗リウマチ薬に最も期待するものは関節破壊抑制作用であり、関節局所で増加する破骨細胞の分化を抑制する薬剤が望まれている。近年破骨細胞の分化に関する分子メカニズムの詳細が明らかになり、その標的分子も数多く同定されている。我々の教室では新規薬剤のヒト破骨細胞の分化誘導に対する作用を効率よくスクリーニングする系を確立しており、この領域での創薬に今後とも貢献していきたい。

略 歴

杉 山 英 二 (すぎやま えいじ)

E-mail: eiji3010@med.u-toyama.ac.jp

現職：

富山大学大学院 医学薬学研究部 (医学系 第一内科) 准教授

富山大学病院 免疫膠原病科 診療教授 (兼任)

略歴

1980年 3月 弘前大学医学部卒業

1980年 6月 富山医科薬科大学附属病院 研修医

1985年 7月 富山医科薬科大学 第一内科 助手

1988年 4月 米国留学

Visiting Assistant Professor of Medicine, Harvard Medical School

Arthritis unit, Massachusetts General Hospital

1996年 7月 富山医科薬科大学第一内科 講師

2001年 11月 富山医科薬科大学医学部第一内科 助教授

2005年 10月 富山大学医学部第一内科 助教授 (大学統合による)

2007年 4月 富山大学大学院医学薬学研究部 准教授

所属学会 日本リウマチ学会、日本骨代謝学会、日本内科学会

研究テーマ 関節リウマチの関節破壊の機序の解析とその治療

主 要 論 文

Sugiyama, E et al J Rheumatol, 1989. **16**(3): p. 276-9.

DeGasperi, R., et al., Science, 1990. **250**(4983): p. 988-91.

Sugiyama, E., et al. J Biol Chem, 1991. **266**(19): p. 12119-22.

Thomas, L.J., et al. J Clin Invest, 1992. **89**(4): p. 1172-7.

Sugiyama, E., et al. J Rheumatol, 1994. **21**(9): p. 1597-601.

Sugiyama, E., et al. J Rheumatol, 1995. **22**(11): p. 2020-6.

Sugiyama, E., et al. Ann Rheum Dis, 1996. **55**(6): p. 375-82.

Mino, T. et al. Arthritis Rheum, 1998. **41**(11): p. 2004-13.

Shinoda, K., et al. Bone, 2003. **33**(4): p. 711-20.

Mohamed, S.G., et al. Bone, 2007. **41**(4): p. 592-602.

Hounoki H, et al. Bone, 2008 (in press)