

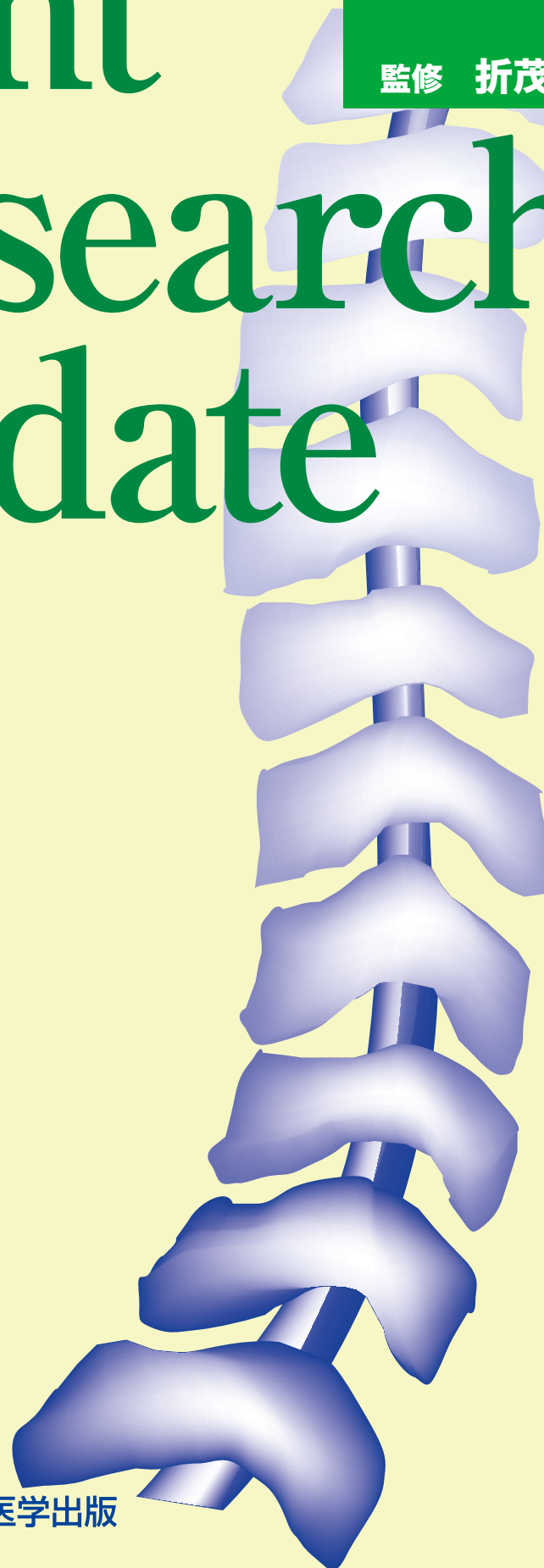
序 文

本文目次

Bone & Joint Research Update

No. 59
April
2016

監修 折茂 肇



iw 国際医学出版

監修

折茂 肇

公益財団法人 骨粗鬆症財団 理事長

顧問

松本 俊夫

徳島大学 藤井節郎記念医科学センター 顧問

編集

福本 誠二

徳島大学 藤井節郎記念医科学センター 特任教授

中島 友紀

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 分子情報伝達学 分野長 教授

宗圓 聰

近畿大学医学部奈良病院 整形外科・リウマチ科 教授

杉本 利嗣

島根大学医学部内科学講座 内科学第一 教授

田中 栄

東京大学大学院医学系研究科外科学専攻 感覚運動機能医学講座整形外科学 教授

米田 俊之

米国インディアナ大学医学部 血液・腫瘍学部門 教授
大阪大学大学院歯学研究科 生化学教室 特任教授(非常勤)

(ABC 順)

本書は、PubMed (2015年8月～12月)に登録された論文の中より、骨代謝およびリウマチ領域研究の注目すべき論文を選択し、その要旨をご紹介します。

なお、本書は出版社および著者より特別の許可を得ていますが、この出版物のいかなる部分または全体を複製することは禁じられています。論文の詳しい内容や文献として引用される場合には、必ず原著論文をお読みいただき、それぞれの規定に準じて下さいますようお願いいたします。

(注1) 本文中には、本邦において承認外の用法・用量が報告されている場合があります。

また、掲載薬剤の一部には、本邦未承認薬が含まれている場合があります。

(注2) 本書に転載されている図表は原著論文にあるオリジナルを損わないよう基本的にそのままの形をもとにして作成されています。

本文目次

古来から革命的な科学の発見は、印象に残る発見譚とともに記憶されてきました。例を挙げればアルキメデスによる浮力原理の発見（入浴時に湯船からお湯があふれるのを見て思いついたとされています）は、そのときアルキメデスが叫んだとされる「ヘウレーカ Eureka（見つけたぞ）」という言葉とともに記憶されていますし、ニュートンの万有引力の発見は、有名なリンゴの逸話として伝えられてきました。このようなエピソードからわかることは、画期的な発見は偶然の瞬間に訪れると考えられていたということです。発見の前に仮説を持つことは、むしろ先入観を持っていたとして批判されていた時期もありました。しかし一方で、パスツールが“Chance favors the prepared mind（幸運は用意された心のみに宿る）”と述べているように、偶然訪れる数少ないチャンスを見逃さないためには、発見する側にも心の準備が必要であることも疑いありません。同じ現象を見ていても、prepared mindを持たない人にとっては何の関心も呼び起こさないでしょう。これと同じことを、少し違う角度から述べた言葉として「セレンディピティ serendipity」がありますが、これは物理学者のシャピーロが「探し求めているものではないものを発見する能力」に対して命名したものです（元々は18世紀のイギリスの作家、Horace Walpoleが生み出した造語であるとされています）。セレンディピティの例として、ノーベル賞受賞者の田中耕一氏の発見は失敗した実験が元であったことなどが有名ですが、このような発見にも prepared mind は必要だったはずです。

さて前置きが長くなりましたが、BJRUでは毎号最新の文献を紹介させていただいていますが、本号でも30編の論文を取り上げました。骨代謝、骨粗鬆症、関節リウマチなどの分野の進歩は著しく、なかなかcatch upが困難ではありますが、日本語という取っ付きやすい形で最先端の仕事に触れることによって、読者の方々のprepared mind熟成に少しでもお役に立つことを、そして将来の大発見につながることを祈念しております。

2016年4月

CONTENTS

各ページにリンク
しています
(表題をクリック)

I 臨床的研究

A 病因・病態

- 原発性副甲状腺機能亢進症における副甲状腺摘除術の左室容量に対する影響：メタ解析 ————— 1
- 高齢者における血清 insulin-like growth factor-1 の骨の健康と骨折との性別特異的関連性 ————— 2
- PTH1 受容体の RG 型三次構造を介したアバロパラチドの骨形成作用 ——— 3
- リン含有食品添加物の摂取による骨・ミネラル代謝への影響 ————— 4
- 高カルシウム (Ca) 血症患者コホートにおける CYP24A1 遺伝子変異：劣性遺伝の確証 ————— 5

B 診断

- 全ゲノムシーケンスにより EN1 は骨密度や骨折の決定因子であることが解明された ————— 6
- 三次医療病院におけるアルカリフォスファターゼ低値に対する認識の欠如 ——— 7

C 治療

- 初期の乳がんに対するビスホスホネートアジュバント療法の効果：無作為化試験により得られた患者の個人データのメタ解析 ————— 8
- 骨粗鬆症患者におけるビスホスホネート関連非定型大腿骨骨折の治療：テリパラチド治療の有無での比較 ————— 9
- アスホターゼアルファによる重症低ホスファターゼ症患者の治療 ————— 10
- 原発性骨粗鬆症患者に対するミノドロロン酸 (月 1 製剤) 単独治療とミノドロロン酸 (月 1 製剤) ビタミン K2 もしくはエルデカルシトール併用療法の投与 12 ヶ月の比較 ————— 11
- 抗スクレロシン抗体と副甲状腺ホルモンの幼年正常ラットの骨に対する時間的作用及び骨芽細胞系統への量的作用の差異 ————— 12

D リウマチの臨床

- 全身性リウマチ疾患患者における高用量グルコルチコイド治療早期の骨代謝状態の解析とアレンドロネートによる早期介入による有益性：EDITOR-J 研究 ————— 13
- 日本人関節リウマチ患者に対するデノスマブの効果：骨びらん抑制効果を立証するためのメトトレキサート使用関節リウマチ患者に対する AMG162 (デノスマブ) の用量反応試験 - 12 ヶ月の多施設二重盲検ランダム化プラセボ対照第 2 相試験 ————— 14
- 関節リウマチ患者に対する人工関節置換術周術期の TNF- α 阻害薬投与：システマティックレビューとメタアナリシス ————— 15
- 抗カルバミル化蛋白抗体は早期炎症性関節炎患者の長期的な機能障害と疾患活動性亢進に関連する：Norfolk Arthritis レジスターから ————— 16

•治療前の血清 IFN- β/α 比の増加は関節リウマチにおける腫瘍壊死因子 α 阻害薬に対する非感受性を予測する	17
•アバタセプトまたはアダリムマブ皮下注射治療の有効性評価に対する治療開始時の抗環状シトルリン化ペプチド-2抗体価の影響:AMPLE 試験2年の結果から	18
•シトルリン化タンパクに対する自己抗体はケモカイン依存性の機序を介して炎症とは独立して関節痛を誘導する	19
•非特異的な筋骨格系症状を有する抗CCP抗体陽性例において臨床的関節炎の発症を予測する:前向きコホート観察研究	20

II 基礎的研究

A 骨芽細胞と骨・軟骨形成, 骨基質蛋白

•FGFシグナルはオートファジーを介して骨の成長を制御する	21
•男性の骨細胞における, アンドロゲンのスクレロシン産生調節への影響:基礎と臨床におけるエビデンス	22

B 破骨細胞と骨吸収

•抗HIV-1ウイルス療法によって誘発される骨量減少におけるT細胞再構成の役割	23
•IGFBP1による肝臓と骨の内分泌連携が, 破骨細胞分化とFGF21誘導性骨破壊を促進する	24

C ホルモンとサイトカイン

•TGF- β の過剰産生は骨転移に合併する筋力低下を誘発する	25
•マイオカインirisinは, 皮質骨の量を増加させる	26

D 炎症・免疫と骨

•肥満マウスの腸内微生物叢は骨ニッチを変化させ造血幹細胞分化を制御する	27
•骨髓深部イメージングによって明らかにされた非分裂性造血幹細胞の類洞血管周囲への局在	28
•がん細胞由来のエキソソームに含まれるインテグリンががん転移の臓器指向性を決定する	29
•Myostatin欠損マウスは関節機能不全と身体機能低下をきたす	30

U.S.A. Hotline コーヒー好きなドクターは?	31
------------------------------	----

原発性副甲状腺機能亢進症における副甲状腺摘除術の左室容量に対する影響：メタ解析

Effect of parathyroidectomy upon left ventricular mass in primary hyperparathyroidism: A meta-analysis

McMahon DJ, Carrelli A, Palmeri N, Zhang C, DiTullio M, Silverberg SJ, and Walker MD

The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 100 : 4399-4407, 2015

©2015 by The Endocrine Society

■背景

原発性副甲状腺機能亢進症 (PHPT) と左室容量 (LVM) の増大との関連は多くの研究で認められているが、左室容量に対する副甲状腺摘除術 (PTX) の影響を評価するには検出力が十分でなかった。本研究はPHPT患者においてPTXがLVMに有益であるか否かを評価することを目的とした。

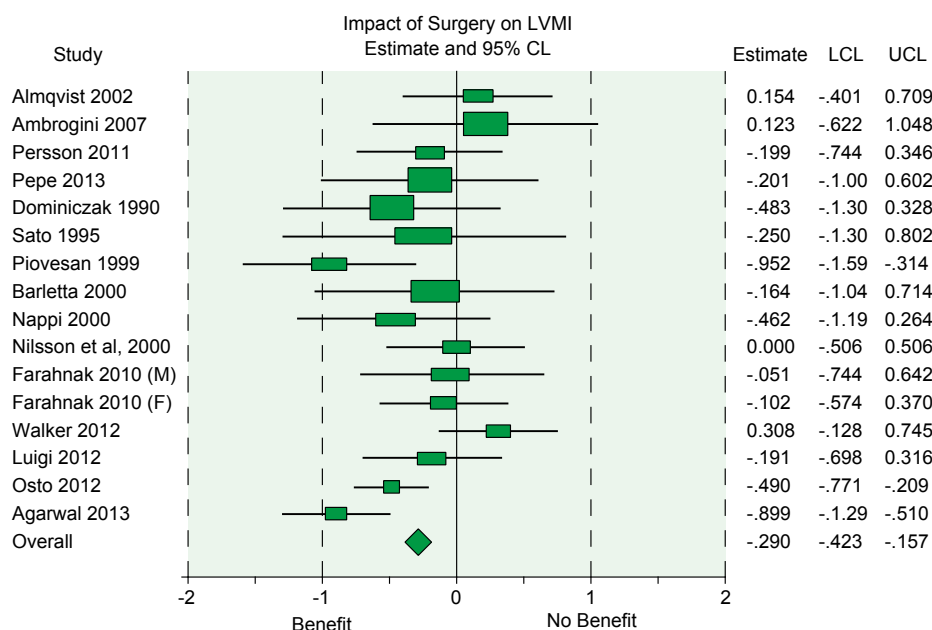
■方法と結果

情報源をPubMed, Medline, Cochrane Library, Clinicaltrials.gov, 総説, 学会抄録とした。超音波でLVMを計測されたPHPT患者で、PTXと経過観察、またはPTX単独での前向き研究を選択した。対象

は15研究 (4つのランダム化比較試験と11の観察研究) でPTXを受けた457人。PTXは平均 $11.6\text{g}/\text{m}^2$ (12.5%) のLVMの減少と関連 (無調整Hedges $g_u = -0.290 \pm 0.07$, 95%CI $-0.423 \sim -0.157$) していた (図)。効果量推定値は研究期間によって異なり ($P < 0.001$), 短期 (6ヵ月以内) では改善を認めたが、長期の研究では改善を認めなかった。ランダム化比較試験に比べ観察研究ではより大きな改善が得られる傾向にあり ($P = 0.07$), 血清カルシウムとPTHは観察研究でより高値であった。ランダム効果モデルを用いた場合も、推定効果量は統計的に有意であった (Hedges $g_u = -0.250$, 95%CI $-0.450 \sim -0.050$)。術前のPTHが高値であるほどより顕著なLVMの減少が得られた ($\beta = -0.039$, 95%CI $-0.075 \sim -0.004$) が、カルシウム値との関連はみられなかった。

■結論

PHPTにおいてLVMはPTXにより減少し、術前のPTH高値がLVMの改善と関連していた。この有益性は



【図】原発性副甲状腺機能亢進症患者における副甲状腺摘除術の左室容量に対する影響を示すフォレストプロット
M, 男性; F, 女性

短期研究に限られていたこと、PHPTの重症度は研究デザインと独立していなかったことから、今後の研究により、LVMの変化に影響する要因や効果の持続期間について明らかにする必要がある。LVM改善の臨床的重要性は明確ではないが、これらの成績からPTHがPHPTにおけるLVMの増大に関与することが示唆される。

■コメント

今回のメタ解析から、PHPTにおいてPTXがLVMの減少に有効であることが明らかとなった。高血圧患者におけるLVMは心血管イベントリスクと考えられるため、PHPTでも同様にリスクの減少や予後の改善に寄与している可能性がある。メカニズムとしてはPTHの心筋細胞への直接作用、動脈への作用を介した後負荷の軽減などが考えられるが、その詳細については明らかでなく、今後の検討を待ちたい。

鳥根大学医学部臨床検査医学講座 矢野 彰三

高齢者における血清insulin-like growth factor-1の骨の健康と骨折との性別特異的関連性

Gender-specific associations of serum insulin-like growth factor-1 with bone health and fractures in older persons

van Varsseveld NC, Sohl E, Drent ML, and Lips P

The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 100 : 4272-4281, 2015

©2015 by The Endocrine Society

■背景

Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) は骨代謝において重要な役割を担うホルモンである。IGF-1と骨量は加齢とともに低下するが、高齢者におけるこれらの関連性はまだ十分に明らかになっていない。

■目的

本研究の目的は、高齢者における血清IGF-1と定量的超音波や骨密度との関連性を横断的に検討し、3年間の骨密度変化と10年間の骨折リスクとの関連性を縦断的に検討することである。

■方法

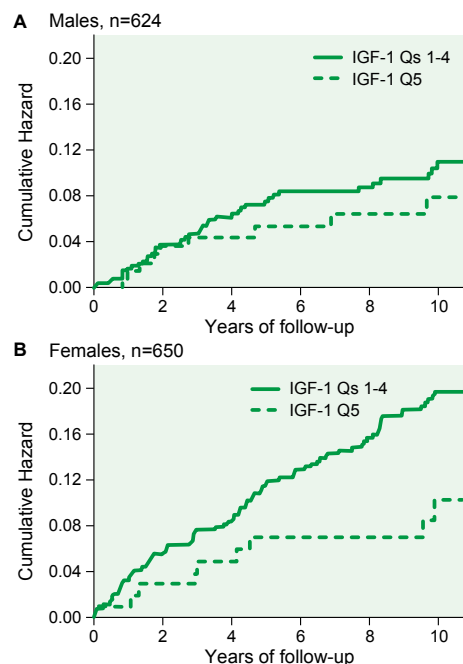
現在進行中の一般住民コホート研究であるアムステルダム縦断的加齢研究から、65歳以上の男性627人と女性656人を対象とした。主要評価項目は、観察開始時血清IGF-1濃度、定量的踵骨超音波〔超音波減衰係数(BUA)、超音波伝播速度(SOS)〕、観察開始時と3年後の骨密度、10年間の縦断的骨折発生である。関連性を適切な交絡因子で補正した。

■結果

女性では、血清IGF-1値で5分割したうち最も低値であった群(Q1)は最も高値であった群(Q5)に比較して、BUAが低く($B = -4.53$; $p = 0.03$)、3年間で大腿骨近位部骨密度の低下が認められた($B = -0.02$; $p = 0.05$)。この関係は男性では認めなかった。さらに女性では、年齢、身体活動度、血清アルブミン、慢性疾患の数にて補正したCox比例ハザード解析において、Q5群に比較して、他の4群を合わせた群(Q1~4)では10年間の骨折リスクが高かった(ハザード比 $= 1.98$, 95%CI 1.00 ~ 3.96, $p = 0.05$) (図)。さらに、Q5では死亡率が低い傾向を認めた(ハザード比 $= 1.97$, 95%CI 0.99 ~ 3.94)。

■結論

血清IGF-1低値とBUA低値、3年後の骨密度低下、10年間の骨折リスク上昇との関連性は女性のみで認められ、男性ではみられなかった。これらの結果は、高齢者におけるIGF-1と骨との関連性における性差についてのこれまでの報告を支持している。



【図】観察開始時の血清IGF-1値で対象を5分割し、最も高値であった群をQ5とし、それ以外をQ1~4として観察期間中の骨折リスクを男女別に検討した。A; 男性624人、B; 女性650人

■コメント

IGF-1が骨代謝に重要であることはよく知られている。血清IGF-1値と骨密度や既存骨折との関連性を検討した横断研究は数多くあるが、新規骨折発生との関連を検討した前向き研究は少ない。血清IGF-1は基礎値が男女間で有意に異なることから、性別ごとの解析が求められる。本研究では男女別に検討されており、女性では血清IGF-1の低下が骨量低下のみならず将来の骨折リスクにおいても重要であることが明らかとなった。さらに、血清IGF-1は死亡率にも影響する可能性が示唆されており興味深い結果である。本研究では血清IGF-1はより女性において重要であることが明らかとなったが、今後はIGF-1と骨折になぜ性差があるのか、死亡率の上昇にIGF-1低下による骨代謝の変化がどの程度影響しているのかなどの検討が必要と考える。

島根大学医学部内科学講座内科学第一 金沢 一平

Keywords IGF-1, 新規骨折, 性差

本文目次

PTH1 受容体のRG型三次構造を介したアバロパラチドの骨形成作用

Binding selectivity of abaloparatide for PTH-type-1-receptor conformations and effects on downstream signaling

Hattersley G, Dean T, Corbin BA, Bahar H, and Gardella TJ

Endocrinology 157 : 141-149, 2016

© 2016 by The Endocrine Society

■背景

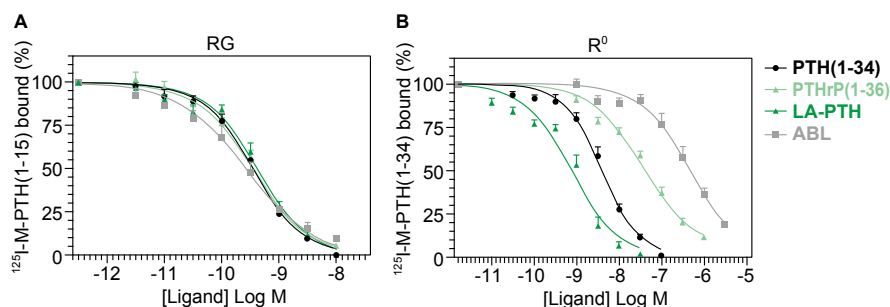
副甲状腺ホルモン (PTH) と副甲状腺ホルモン関連タンパク (PTHrP) は PTH1 受容体の内因性リガンドであり、骨ミネラル代謝を調節している。PTH の N 端ペプチドである PTH(1-34) は、PTH1 受容体を介した骨粗鬆症治療薬として、すでに臨床応用されている。一方ヒト PTHrP のアナログであるアバロパラチドは、骨形成は促進するものの、骨吸収の亢進や高カルシウム血症を惹起しにくいことが報告され

ている。G タンパク共役型受容体の一つである PTH1 受容体は、リガンドの結合が G タンパクに依存しない R⁰ 型と G タンパクに依存する RG 型の 2 種類の三次構造をとる。RG 型は R⁰ 型よりも短期的な細胞内シグナル活性化に関連していることが示されている。そこで、アバロパラチドが RG 型あるいは R⁰ 型のいずれに作用するのかを検討した。

■方法と結果

1. ヒト PTH1 受容体と cAMP レポーターシステムを発現させた HEK-293 由来細胞である GP-2.3 から細胞膜を抽出し、¹²⁵I-PTH(1-34) あるいは ¹²⁵I-M-PTH(1-15) を用いた放射性リガンド結合アッセイにより、アバロパラチド、PTH(1-34)、PTHrP(1-36)、LA-PTH (long acting PTH/PTHrP hybrid peptide analog) の RG 型、R⁰ 型 PTH1 受容体への結合性をそれぞれ評価した。その結果、RG 型に対して、アバロパラチド、PTH(1-34)、PTHrP(1-36)、LA-PTH は同程度の親和性を示した (図)。一方 R⁰ 型に対しては、アバロパラチドは PTHrP(1-36) の 1/9、PTH(1-34) の 1/80、LA-PTH の 1/400 の弱い親和性を示した (図)。したがって、アバロパラチドが他のリガンドよりも RG 型受容体に選択的に結合することが示された。

2. GP-2.3 細胞にアバロパラチド、PTH(1-34)、PTHrP(1-36)、LA-PTH を添加し、cAMP 産生を反映するレポーター



【図】 PTH1 受容体の RG 型、R⁰ 型に対する各リガンドの結合性
RG 型に対して、アバロパラチド、PTH(1-34)、PTHrP(1-36)、LA-PTH は同程度の親和性を示した (A)。一方 R⁰ 型に対しては、アバロパラチドは PTHrP(1-36) の 1/9、PTH(1-34) の 1/80、LA-PTH の 1/400 の弱い親和性を示した (B)。

活性を測定した。アバロパラチドは PTH(1-34) の約 5 倍の力価を示した (EC₅₀, 0.087 nM vs 0.44 nM)。さらに、各リガンドを除去した後、150 分後まで cAMP レポーター活性を測定したところ、アバロパラチド添加群は PTH(1-34) 添加群に比較して細胞内 cAMP の消失が速やかであった (area under the curve, 4298 ± 561 vs 8664 ± 1698)。一方、ERK-1/2 シグナルの活性化は各リガンド間で有意差を認めなかった。

■結論

アバロパラチドは、PTH(1-34) と比較して RG 型受容体への選択性が強く、より短期的な細胞内シグナル活性化を示すことが確認された。

■コメント■

アバロパラチドの骨形成促進作用は、閉経後女性を対象とした多施設共同二重盲検試験により示されている (Leder BZ, et al. *J Clin Endocrinol Metab.* 100(2):697-706, 2015)。本検討では、各種 PTH・PTHrP アナログの PTH1 受容体への作用を *in vitro* で検討し、RG 型受容体への選択性の強さがアバロパラチドの骨形成促進作用と関連している可能性を示した。PTH1 受容体の RG 型、R⁰ 型を介した短期的、長期的シグナルが骨の細胞にどのような変化をもたらすのか、今後の検討が必要である。

東京大学医学部附属病院腎臓・内分泌内科 木下 祐加

リン含有食品添加物の摂取による骨・ミネラル代謝への影響

Impact of phosphorus-based food additives on bone and mineral metabolism

Gutiérrez OM, Luzuriaga-McPherson A, Lin Y, Gilbert LC, Ha S-W, and Beck GR Jr

The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 100 : 4264-4271, 2015

© 2015 by The Endocrine Society

■背景

リン含有食品添加物の摂取により、1日の総リン摂取量は増加する。しかし、リン含有食品添加物が骨・ミネラル代謝を制御する内分泌系にどのような影響を及ぼすかは明らかではない。

■目的

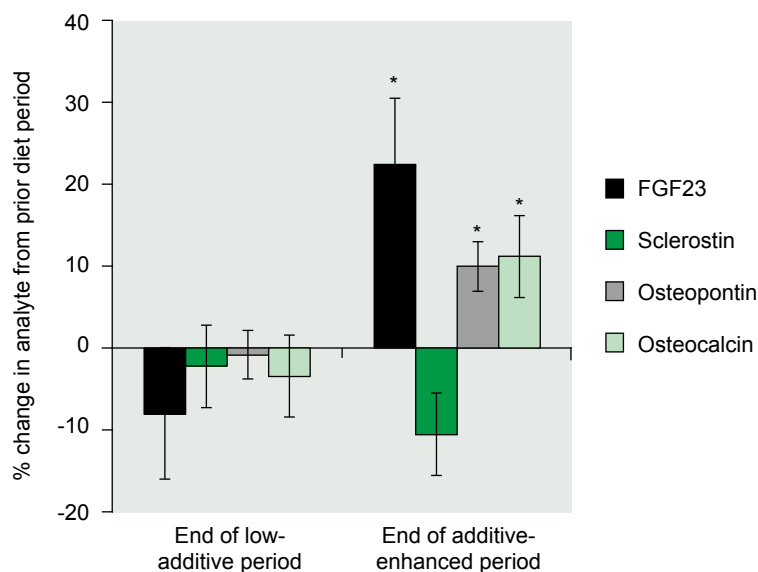
リン含有食品添加物の摂取が骨・ミネラル代謝マーカーに及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

■研究デザインと対象

10名の健常成人にリン含有食品添加物が含まれていないことが既知の食品を用いて、1日リン摂取量が1,000mgまでとなるような食事を1週間摂取させた(低食品添加物食)。その後、同一の食事内容にリン含有食品添加物を加えて1週間摂取させた(高食品添加物食)。また、リン含有率0.2%の低リン食、あるいはリン含有率1.8%の高リン食を5週または15週間、マウスに摂取させる実験を行った。

■結果

低食品添加物食には1日 $1,070 \pm 58\text{mg}$ のリンが、高食品添加物食には $1,677 \pm 167\text{mg}$ のリンが含まれていた。1週間の低食品添加物食の後に高食品添加物食を摂取することにより、血中のFGF23、オステオポンチン、オステオカルシン濃度はそれぞれ23%、10%、11%有意に上昇した(図)。血中スクレロステチン濃度は低下傾向を示したが、有意ではなかった(図)。マウスを用いた動物実験では、高リン食によって血中FGF23、オステオポンチン、オステオカルシンは上昇し、スクレロステチンは低下した。また、2重エネルギーX線吸収測定法で評価した椎体骨および大腿骨双方の有意な骨密度の低下が認められた。さらにマイクロCTを用いた検討では、海綿骨骨梁数や骨梁幅、皮質骨幅の減少、皮質骨多孔性の増加が認められた。



【図】各食事摂取終了直後の血中FGF23、スクレロステチン、オステオポンチン、オステオカルシンの変化率。結果は平均±標準偏差で示す。

■結語

ヒトにおいて、リン含有食品添加物による経口リン摂取の亢進は、骨・ミネラル代謝を変化させることが明らかとなった。動物実験の結果は、高リン食の骨への悪影響を示唆している。

■コメント■

リンは生体に必須のミネラルであり、その摂取は腸管からのリン吸収に、排泄は主に腎臓からの尿中排泄に依存している。リンはほとんど全ての食物に含まれているが、特に食品添加物の中に多くの無機リンを含有するものがある。本検討により、実際にヒトでリン含有食品添加物の摂取が骨・ミネラル代謝マーカーを変動させることが明らかとなった。ただし、本報告のマウスで認められたような骨の変化がヒトでも起こるのかどうかについては、今後さらに検討が必要である。

東京大学医学部附属病院腎臓・内分泌内科 高士 祐一

高カルシウム (Ca) 血症患者コホートにおける *CYP24A1* 遺伝子変異：劣性遺伝の確証

CYP24A1 mutations in a cohort of hypercalcemic patients: Evidence for a recessive trait

Molin A, Baudoin R, Kaufmann M, Souberbielle JC, Ryckewaert A, Vantyghem MC, Eckart P, Bacchetta J, Deschenes G, Kesler-Roussey G, Coudray N, Richard N, Wraich M, Bonafiglia Q, Tiulpakov A, Jones G, and Kottler M-L

The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 100 : E1343-1352, 2015

© 2015 by The Endocrine Society

■背景

25-水酸化ビタミンD-24-水酸化酵素をコードする *CYP24A1* 遺伝子の機能喪失型変異が、高Ca血症の原因となることが近年報告された。

■目的

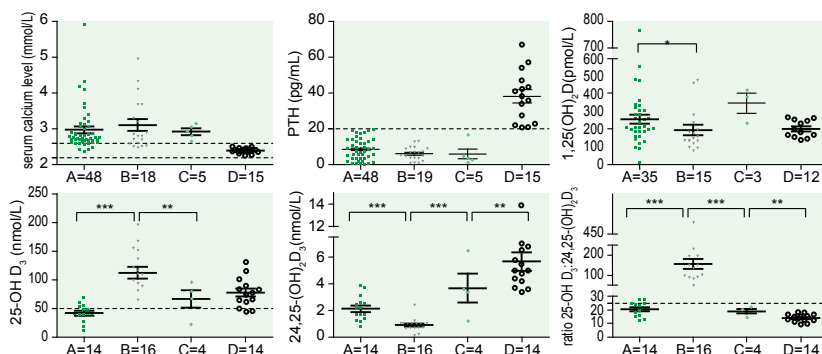
本検討では、①高Ca血症の既往歴を有する患者群において *CYP24A1* 変異を有する頻度を評価する、②液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析計 (LC-MS/MS) による血清 25-水酸化ビタミンDおよび24,25-水酸化ビタミンDの同時測定の実臨床的有用性を評価する、③ *CYP24A1* 遺伝子のヘテロ変異を有する保因者の血液生化学所見を調査する、ことを目的とした。

■対象と方法

血清Ca濃度が2.6 mmol/L (10.4 mg/dL) 超、かつPTHが20 pg/mL未満であった72名の *CYP24A1* 変異の有無をスクリーニングした。さらに遺伝カウンセリングを施行した上で、当該患者の24名の親族の調査を行った。ビタミンD代謝産物をLC-MS/MSにより測定し、25-水酸化ビタミンDと24,25-水酸化ビタミンDの比率を算出した。

■結果

72名の高Ca血症患者のうち、25名 (35%) で *CYP24A1* の変異が認められた。20名 (28%) はホモ接合体であり、20名中19名で腎石灰化と腎結石の所見を認めた。5名の新生児は、変異のヘテロ接合体であったが、腎合併症を有していなかった。筆者らは本検討の中で、15種類の新規機能喪失型変異を発見した。 *CYP24A1* の機能喪失型変異をホモ接合体で有する者は、25-水酸化ビタミンDと24,25-水酸化ビタミンDの比が80超と著明に高値であった (図)。対照的に、 *CYP24A1* 変異を有さない者はこの比が25未満であった。高Ca血症を示している、ヘテロ接合体であれば、血中24,25-水酸化ビタミンDは検出可能で、25-水酸化ビタミンDとの比率も25未満であり、24-水酸化酵素の活性が正常に保たれていることを示唆していた。



【図】 LC-MS/MSによる血清中ビタミンD代謝産物のデータ

グループA：高カルシウム血症を示すが、 *CYP24A1* 変異を有さない者。グループB：高カルシウム血症を示し、 *CYP24A1* の変異をホモ接合体で有する者。グループC：高カルシウム血症を示し、 *CYP24A1* の変異をヘテロ接合体で有する者。グループD： *CYP24A1* 変異をヘテロ接合体で有する保因者である親族。健康人では25-水酸化ビタミンDの基準値は50~125 nmol/L、24,25-水酸化ビタミンDは3.6-12 nmol/L、比は通常5~25となる。

■結論

CYP24A1 変異は、高Ca血症と低PTH血症を示し、腎石灰化や腎結石を有する患者において高率に同定された。今回の検討から、ビタミンD代謝産物の比を評価することで、正確にまた効率的に *CYP24A1* 変異のスクリーニングが可能であることが示された。変異のヘテロ接合体の大部分は症候を示さないが、ビタミンD過剰摂取下では高Ca血症を示す可能性がある。

■コメント

ビタミンDは生体内でCa調節ホルモンとして作用するだけでなく、細胞の分化・増殖の調節にも関与している。1,25-水酸化ビタミンD産生を担う、 *CYP27B1* がコードする25-水酸化ビタミンD-1- α -水酸化酵素の重要性は、以前から認知されていた。これに加え、 *CYP24A1* の変異により高Ca血症が惹起されることが報告され、24-水酸化酵素の重要性が認識されることとなった。本報告は、ビタミンD代謝物の測定により *CYP24A1* 変異を推定できることを示した貴重なものである。Ca代謝における *CYP24A1* の制御機構については未だ不明な点が残されており、今後の研究が待たれる。

東京大学医学部附属病院腎臓・内分泌内科 高士 祐一

全ゲノムシーケンスにより EN1 は骨密度や骨折の決定因子であることが解明された

Whole-genome sequencing identifies EN1 as a determinant of bone density and fracture

Zheng HF, Forgetta V, Hsu YH, Estrada K, Rosello-Diez A, Leo PJ, Dahia CL, Park-Min KH, Tobias JH, Kooperberg C, Kleinman A, Styrkarsdottir U, Liu CT, Uggla C, Evans DS, Nielson CM, Walter K, Pettersson-Kymmer U, McCarthy S, Eriksson J, Kwan T, Jhamai M, Trajanoska K, Memari Y, Min J, Huang J, Danecek P, Wilmot B, Li R, Chou WC, Mokry LE, Moayyeri A, Claussnitzer M, Cheng CH, Cheung W, Medina-Gomez C, Ge B, Chen SH, Choi K, Oei L, Fraser J, Kraaij R, Hibbs MA, Gregson CL, Paquette D, Hofman A, Wibom C, Tranah GJ, Marshall M, Gardiner BB, Cremin K, Auer P, Hsu L, Ring S, Tung JY, Thorleifsson G, Enneman AW, van Schoor NM, de Groot LC, van der Velde N, Melin B, Kemp JP, Christiansen C, Sayers X, Zhou Y, Calderari S, van Rooij J, Carlson C, Peters U, Berlivet S, Dostie J, Uitterlinden AG, Williams SR, Farber C, Grinberg D, LaCroix AZ, Haessler J, Chasman DI, Giulianini F, Rose LM, Ridker PM, Eisman JA, Nguyen TV, Center JR, Noguez X, Garcia-Giralte N, Launer LL, Gudnason V, Mellström D, Vandenput L, Amin N, van Duijn CM, Karlsson MK, Ljunggren Ö, Svensson O, Hallmans G, Rousseau F, Giroux S, Bussière J, Arp PP, Koromani F, Prince RL, Lewis JR, Langdahl BL, Hermann AP, Jensen JE, Kaptoge S, Khaw KT, Reeve J, Formosa MM, Xuereb-Anastasi A, Åkesson K, McGuigan FE, Garg G, Olmos JM, Zarrabietia MT, Riancho JA, Ralston SH, Alonso N, Jiang X, Goltzman D, Pastinen T, Grundberg E, Gauguier D, Orwoll ES, Karasik D, Davey-Smith G, AOGC Consortium, Smith AV, Siggeirsdottir K, Harris TB, Zillikens MC, van Meurs JB, Thorsteinsdottir U, Maurano MT, Timpson NJ, Soranzo N, Durbin R, Wilson SG, Ntzani EE, Brown MA, Stefansson K, Hinds DA, Spector T, Cupples LA, Ohlsson C, Greenwood CM, UK10K Consortium, Jackson RD, Rowe DW, Loomis CA, Evans DM, Ackert-Bicknell CL, Joyner AL, Duncan EL, Kiel DP, Rivadeneira F, and Richards JB

Nature 526 : 112-117, 2015

© 2015, Rights Managed by Nature Publishing Group

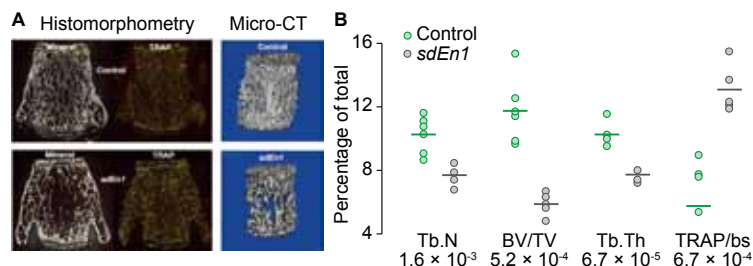
■背景

骨粗鬆症は骨塩量の低下を示す骨疾患であり、骨塩量 (BMD) の遺伝的関連は85%以下と高い関連が示唆されている。GWASによりBMDと関連する多くの遺伝子座の同定に成功しているが、これらは一般的な変異 (MAF>5%) に依存するものが多く、低頻度 (MAF1 ~ 5%), 稀 (MAF ≤ 1 %) の変異の関連を示す報告は少ない。本研究ではヨーロッパ系の人々におけるBMD、骨折に大きな影響を及ぼす新規遺伝子変異を解明した。

■方法と結果

UK10Kの2つのコホート (2,882人) に対して全ゲノムシーケンス、骨粗鬆症の5つのコホート (3,549人) において全エクソームシーケンス解析を行った。そして、UK10Kと1,000 GenomesによるGWAS研究 (26,534人) から作成された新規遺伝子推定参照パネルを用い、稀な変異における遺伝子推定を行った。その後、13のコホート (20,271人) について複製遺伝子型判定を行った。さらに、筆者らは骨折好発部位の前腕、大腿骨頸部、腰椎のBMDとの関連についてメタ分析を行い、関連を解析し、腰椎の骨塩量に影響する2q14.2に位置する新規の変異rs11692564 (T) (MAF=1.7%, 効果量+0.24 s.d. $P=4 \times 10^{-9}$) を見出した。この変異はengrailed homeobox-1 (EN1) の53kb下流に位置し、今まで骨粗鬆症との関連の報告がない遺伝子であった。さらに、1,853人の全ゲノムシーケンスした被験者の遺伝子型判定を行ったところ遺伝子型は完全に一致した。また、rs11692564近傍に各部BMDと関連した変異rs55983207, rs6542457, rs188303909を同定し、EN1近傍の複数の非コード変異がBMDと関連することが示唆された。

EN1はマウスの四肢の発達において主要なホメオボックス遺伝子をコードしている。筆者らは頭蓋骨由来細胞による骨芽細胞分化培養においてEN1の発現を見出したが、骨髄細胞由来の破骨細胞分化培養においてはEN1の発現が見られなかった。また、EN1の活性化部位を調べるため、En1^{lacZ/+} knock-in マウスの椎骨の分析を行い、



【図】A : 左 野生型マウスとEN1cre/flox(sdEn1) マウスのLS5の組織形態学的画像。右 野生型マウスとEN1cre/flox(sdEn1) マウスの腰椎マイクロCT画像。B : マイクロCTにより得られた骨梁の数(Tb.N)骨梁の厚さ(Tb.Th)組織量に対する骨量(BV/TV)組織形態計測より得られた骨髄に対するTRAP陽性領域。

LacZの発現を増殖軟骨細胞、肥大軟骨細胞、骨膜内や海綿骨表面の骨形成細胞、皮質骨や海綿骨の骨細胞に認めた。En1^{cre/+}; R26^{lox-STOP-lox-EYFP} reporter マウスの解析からEn1が骨形成細胞系のみで発現していることが示唆された。さらに、En1^{cre/flox} (sdEn1) マウスを作製し、腰椎(L5)、大腿骨のマイクロCTを撮影したところBMD、骨梁の減少が見出され(図)、組織学的分析よりEN1^{cre/flox}において骨形成細胞、破骨細胞の割合が増加した。以上より、低骨量の原因はEn1欠損骨形成細胞によってもたらされる骨代謝回転の増加であることが示唆された。

さらに、筆者らはWnt16の近傍で、CPED1のイントロン領域である7q31.31に位置する前腕のBMDと関連した新規変異rs148771817を同定した。

■結論

全ゲノムシーケンス解析より骨塩量や骨折と大きな関連を示すEMI近傍の低頻度、稀な遺伝子変異を多数同定し、EN1がBMDの調節に関与し、骨の生態学において必須であることを示した。

■コメント■

全ゲノムシーケンス解析を基盤とした研究と莫大なデータに基づいた遺伝子推定により稀な遺伝子変異の発見が容易になったと示唆されている。骨領域におけるさらなる遺伝学的要因の発見が期待される。

東京医科歯科大学分子情報伝達学 土谷 洋輔, 中島 友紀

Keywords

GWAS, 骨塩量, rare variant

本文目次

三次医療病院におけるアルカリフォスファターゼ低値に対する認識の欠如

Absence of recognition of low alkaline phosphatase level in a tertiary care hospital

Maman E, Borderie D, Roux C, and Briot K

Osteoporosis International 27 : 1251-1254, 2016

© International Osteoporosis Foundation and National Osteoporosis Foundation 2015

■背景

血清の総アルカリフォスファターゼ (ALP) の低値は、低フォスファターゼ症 (HPP) の特徴であり、骨吸収抑制薬を避け、適切な治療を行うように認識されなければならない。本研究の目的は、三次医療病院においてALP持続低値の認識を評価することであった。

■方法と結果

2013年1月1日～12月31日の間に当院の生化学部門で48,755人のALPを検査した。68人 (0.13%) の患者で血清ALP値が40IU/lを常に下回っていた。そのうち6人には続発性HPPの潜在的要因があった。残る62人の退院要約を調べ、ALP低値の認識があったかどうかを検討した。膠原病科と内科に入院していた患者に対してアンケート調査を行い、HPPに関する臨床評価の質問項目に回答してもらった。

62人の年齢は46.5 ± 17.7歳で、73%が女性であった。ALP低値について退院要約に触れていたのは2人 (3%) の患者のみで、コメントはなかった。そのうち24人の患者 (46 ± 16歳) を調査した (表)。8人に骨折の既

往があり、2人は幼少時にくる病と診断されていた。2人には症候性の軟骨石灰化症があり、9人に歯牙異常が認められた。3人がビスホスホネートの投薬を受けており、うち2人がその治療中に骨折していた。

■結論

われわれの研究により、高度医療病院に入院した成人において、ALPの低値は臨床現場で認識されていないことが示された。

■コメント■

高度医療施設であっても、ALP低値に対して注意が払われていないことが示された。HPPは常染色体劣性遺伝性疾患で、組織非特異的ALPの欠損により骨の低石灰化やくる病様変化、乳歯の早期脱落を主症状とする。本検討では遺伝子診断をしていないものの、ALP低値の頻度は0.13%で、HPP (10万人に1人) よりはるかに高く、成人型HPPの可能性が考えられる。ビスホスホネートなど骨吸収抑制薬の投与時には医原性骨折を招かないよう特に注意する必要がある。

島根大学医学部臨床検査医学講座 矢野 彰三

【表】 持続的にALP低値を呈した成人における低フォスファターゼ症に関連する臨床的特徴

Patient	Age	Sex	Rickets in childhood (Reported by the patient)	Familial history of HPP	Diagnosis	History of Fractures	Chondrocalcinosis	Dental abnormalities	Bisphosphonate
1	42	Female	Yes	No	Sjogren syndrome	10	No	Yes (TE)	No
2	37	Female	No	No	Sjogren syndrome		No	Yes (TE)	No
3	24	Female	No	No	Lupus		No	Yes (ELDT)	No
4	36	Female	No	No	APLS	2 (humerus)	No	No	No
5	46	Female	No	No	ANCA vasculitis		No	No	No
6	62	Female	No	No	Cystoid macular edema		No	No	No
7	67	Female	No	No	Antisynthetase syndrome	3 rib, 1 vertebra	No	No	Yes *F
8	41	Female	No	No	Degenerative disk disease		No	No	No
9	22	Female	No	No	Chronic inflammatory arthritis		No	No	No
10	22	Female	No	No	RA		No	No	No
11	64	Female	No	No	RA	3 rib	Yes	No	Yes
12	51	Female	No	No	RA		No	Yes (SDA, GR)	No
13	36	Female	No	Yes	RA	2 tibia	Yes	Yes (GR, MT)	No
14	33	Female	No	No	SPA		No	No	No
15	56	Female	No	No	SPA	1 elbow	No	No	No
16	43	Female	No	No	SPA		No	Yes (dental fracture)	No
17	34	Female	No	No	Scleroderma	1 tibia	No	No	No
18	73	Female	No	No	Giant cell arthritis		No	No	Yes *F
19	72	Female	No	No	RA		No	No	No
20									
21	53	Male	No	No	Primitive cerebral vasculitis	2 tibia, clavicle	No	Yes (TE)	No
22	59	Male	Yes	No	Severe osteoarthritis		No	Yes (SDA, TE)	No
23	61	Male	No	No	Chronic inflammatory arthritis		No	Yes (TE)	No
24	24	Male	No	No	Uveitis		No	No	No

RA 関節リウマチ, SPA 脊椎関節炎, APLS 抗リン脂質抗体症候群, ANCA 抗好中球細胞質抗体, TE 歯牙エナメル質の異常, ELDT 乳歯早期脱落, SDA 脱落歯, GR 歯肉退縮, MT 動揺歯, *F 骨吸収抑制薬治療中の骨折

Keywords アルカリフォスファターゼ, ビスホスホネート, 低フォスファターゼ症, 骨軟化症

本文目次

初期の乳がんに対するビスホスホネートアジュバント療法の効果：無作為化試験により得られた患者の個人データのメタ解析

Adjuvant bisphosphonate treatment in early breast cancer: Meta-analyses of individual patient data from randomised trials

Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG): Coleman R, Powles T, Paterson A, Gnant M, Anderson S, Diel I, Gralow J, von Minckwitz G, Moebus V, Bergh J, Pritchard KI, Bliss J, Cameron D, Evans V, Pan H, Peto R, Bradley R, and Gray R

The Lancet 386 : 1353-1361, 2015

Copyright © 2015 Elsevier Ltd. All rights reserved.

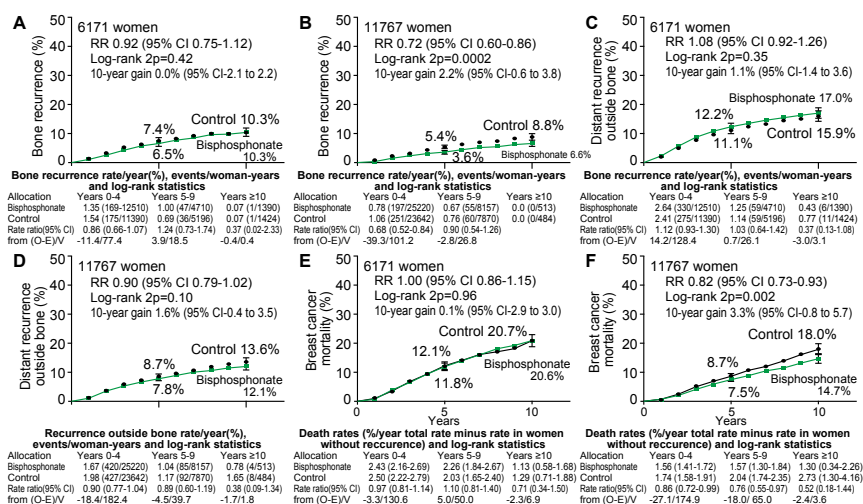
■背景・目的

血液中を循環するがん細胞は骨に引き寄せられ、骨芽細胞ニッチに潜伏しながら突然増殖し始め、骨や内臓臓器に転移する。ビスホスホネート(BP)は骨に対して強い作用を示すことからがんの骨からの転移に対しても影響を及ぼすと考えられる。本研究では乳がんに対するBPアジュバント療法(BPAT)のリスクとベネフィットをメタ解析により検討した。

■方法と結果

1. 26の臨床試験から18,766名の個人患者データベース登録があった。BPの平均予定治療期間は3.4年であったが、18,206名(97%)は2～5年の治療を受けていた。平均フォローアップ期間は5.6年、その間に3,453名の女性に乳がんが再発し、そのうち2,106名が死亡した。

2. 局所と遠隔臓器を含めた全再発率はBPAT群でわずかに低かったが有意ではなかった。しかし骨を含めた遠隔転移に限るとボーダーラインではあるがBPAT群で有意の抑制効果が見られた。一方局所の同側、あるいは反対側での再発に差は認められなかった。またBPATは局所と比較して有意に遠隔転移を抑制した。3. 遠隔転移に対してBPATが効果を示したのは主に骨転移を抑制したことによる。またBPATは他の臓器と比べて骨転移に対して有意の抑制効果を示した。4. BPATにより死亡率はボーダーラインであるが有意に低下した。2,106名の死亡者のうち501名(19%)は乳がん再発ではなく、BPATは乳がんと関係しない死亡率には影響を及ぼさなかった。5. 骨転移に限定して解析を進めたところ、BPATの骨転移抑制効果は高齢で閉経後の女性でより強く見られ、45歳以下の4,616名の女性では有意の効果を示さなかったのに対して、55歳以上の7,388名の女性では非常に効果的であった。6. 骨転移以外の遠隔転移においても高齢で閉経後の女性においてBPATはより効果的であった。7. 乳がんの組織型、ERの有無、リンパ節転移の有無、投与したBPの種類(非窒素含有BP、クロドロネート, 5,053名: 窒素含有BP, ゴ



【図】閉経前と閉経後乳がん患者に対するBPATの効果。閉経前乳がん患者(A, C, E)ではいずれの項目においてもBPATの効果は見られないが、閉経後乳がん患者(B, D, F)では骨転移(A, B)と死亡率(E, F)に対してBPATは有意の抑制効果を示した。骨以外の遠隔転移(C, D)に対しては閉経後でも効果は見られなかった

レドロネ酸, 9,290名: イバンドロネート, 3,072名, ただし経口パミドロネートは効果無し), 投与方法, 投与期間(2年と3～5年) および化学療法の有無とBPATの効果との間に相関は見られなかった。8. 閉経前女性においては、BPATは骨転移、死亡率に対してまったく効果を示さなかった(図)。9. 一方閉経後女性においては、BPATは再発率、遠隔転移、骨転移および死亡率を強く抑制した(図)。10. BPATは骨折発生も有意に抑制した。

■結論

BPアジュバント療法は乳がんの骨転移を抑制し、乳がん患者の生存率を改善するが、このような効果が得られるのは治療が始まった時期が閉経後であった女性に限られる。

■コメント

メタ解析によりBPアジュバント療法の効果を詳細に検討した興味深い報告である。特にBPアジュバント療法が乳がん患者の生存率を改善することを明らかにした点は貴重な情報である。ただこれまでの研究からも示されていたが、こういったBPのベネフィットが閉経後女性に限られる理由を明らかにし、閉経前の乳がん患者に対するBPアジュバント療法の妥当性を支持する理論的根拠の確立も望まれる。

インディアナ大学医学部血液腫瘍内科学部門 米田 俊之

骨粗鬆症患者におけるビスホスホネート関連非定型大腿骨骨折の治療：テリパラチド治療の有無での比較

Healing of bisphosphonate-associated atypical femoral fractures in patients with osteoporosis: a comparison between treatment with and without teriparatide

Miyakoshi N, Aizawa T, Sasaki S, Ando S, Maekawa S, Aonuma H, Tsuchie H, Sasaki H, Kasukawa Y, and Shimada Y

Journal of Bone and Mineral Metabolism 33 : 553-559, 2015

© The Japanese Society for Bone and Mineral Research and Springer Japan 2014

■背景

ビスホスホネート使用によって非定型大腿骨骨折 (atypical femoral fractures, AFF) がしばしば起こる。テリパラチドはおそらく AFF の治療を促進するが、テリパラチドのビスホスホネート関連 AFF の治療への影響を検討したコントロール比較研究は少ない。

■目的

日本人骨粗鬆症患者において、ビスホスホネート関連 AFF 発症後のテリパラチド治療の有無で骨折治癒に差があるか否かを比較検討する。

■方法

2006年から2013年の間に著者らの施設で AFF の治療を受け、AFF と診断される前に 12 ヶ月以上経口ビスホスホネートが処方されており、AFF 治療後最低 12 ヶ月間経過を確認できた、日本人患者 34 人 (AFF 計 45 回) の医療記録を後方視的に検討した。全ての対象者は原発性骨粗鬆症の女性患者である。全ての症例で受傷後ビスホスホネートは中止され、37 回 (82%) の完全・不完全 AFF は手術、8 回 (18%) の不完全 AFF は保存的に治療された。

■結果

テリパラチド非投与群 (n=24), 投与群 (n=21) に分け、骨折治癒までの時間、治癒遅延や偽関節の頻度を比較した。各群間で完全骨折、不完全骨折の症例数が異なるため、全手術例、完全 AFF 手術例、不完全 AFF 保存的治療例に分けたサブ解析のみを行った。全手術例において、骨折治癒時間は有意にテリパラチド投与群で短く (5.4 ±

1.5 vs 8.6 ± 4.7 ヶ月, $p=0.012$), 治癒遅延や偽関節の頻度は有意に低かった ($p=0.014$) (表)。完全 AFF 手術例の解析では同様の結果を認めたが、不完全 AFF 保存的治療では有意な差は認めなかった。

■結論

ビスホスホネート関連 AFF 後のテリパラチド治療は、手術後の骨折治癒までの時間を有意に短縮し、治癒遅延や偽関節の発生頻度を有意に改善することが示された。

■コメント■

ビスホスホネートの開発により骨粗鬆症診療や骨研究が発展した一方で、近年では長期の使用により発症リスクが上昇する AFF の対策が急務となっている。テリパラチドが骨折治癒を促進することが報告されており、骨吸収抑制薬関連 AFF に対する有効性も期待されている。本研究は、一施設で行われた小規模後方視的研究であるため結論付けることはできないが、日本人患者においてテリパラチド投与がビスホスホネート関連 AFF の治療成績を改善することを初めて報告した貴重な研究である。症例数が少ないため保存的治療でのテリパラチドの有効性については有意差がなかったが、この点は今後の検討として重要な課題である。また、本研究では骨密度や骨代謝マーカー、糖尿病などの合併症のデータがなく、今後はこういった症例にテリパラチドが有効かの検討も期待される。

島根大学医学部内科学講座内科学第一 金沢 一平

【表】手術が施行された AFF で、テリパラチド投与群と非投与群に分けた比較

	Non-TPTD group (n = 21)	TPTD group (n = 16)	P
Age at fracture (years)	77.5 ± 6.1 (68–88)	79.3 ± 3.4 (74–84)	0.318
Duration of bisphosphonate use before fracture (months)	46.8 ± 37.0 (12–132)	58.5 ± 32.4 (12–140)	0.380
Follow-up period after fracture (months)	24.9 ± 23.7 (12–90)	15.2 ± 3.6 (12–24)	0.129
Healing time of fracture (months)	8.6 ± 4.7 (3–24)	5.4 ± 1.5 (2–7)	0.012
Final results			0.014
Union	12	15	
Delayed-union	8	1	
Non-union	1	0	

データは平均±標準偏差(範囲), もしくは骨折数で示す。

Keywords テリパラチド, 非定型大腿骨骨折, ビスホスホネート, 偽関節

本文目次

アスホターゼアルファによる重症低ホスファターゼ症患者の治療

Asfotase alfa treatment improves survival for perinatal and infantile hypophosphatasia

Whyte MP, Rockman-Greenberg C, Ozono K, Riese R, Moseley S, Melian A, Thompson D, Bishop N, and Hofmann C

The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 101 : 334-342, 2016

© 2015 by the Endocrine Society

背景

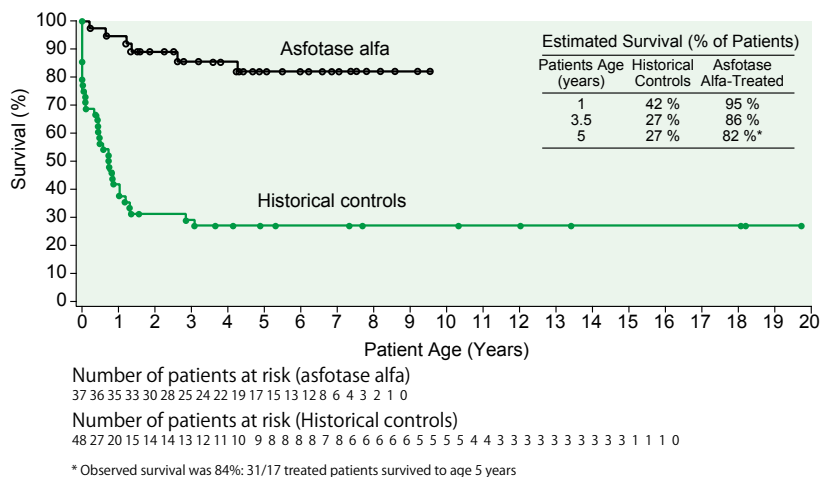
低ホスファターゼ症 (HPP) は、アルカリホスファターゼ (ALP) をコードする *TNSALP* 遺伝子の機能喪失変異により、低ALP血症と骨石灰化障害を特徴とする疾患である。HPPの臨床病型は様々であるが、乳幼児期発症の重症HPPの致死率は50～100%と高く、中でも呼吸不全が問題となっている。そこで、ヒト遺伝子組換え組織非特異的ALP融合蛋白であるアスホターゼアルファを用いた酵素補充療法による、乳幼児期発症の重症HPP患者の生存率、骨X線写真、呼吸状態の変化について検討した。

方法と結果

アスホターゼアルファの多施設共同非盲検化第二相臨床試験に参加した乳幼児HPP患者37人の経過を、条件をそろえた既存対照患者48人の後ろ向き解析の結果と比較した。治療群ではアスホターゼアルファ1 mg/kg週6回、あるいは2 mg/kg週3回が皮下投与された。治療期間中央値は2.7年であった。治療群は既存対照群と比較して、1年生存率(95% vs 42%)と5年生存率(84% vs 27%)の改善を認めた(図1)。人工呼吸器を必要とした患者のうち、既存対照群では5%(20人中1人)のみ生存したのに対して、治療群では76%(21人中16人)が生存し、さらにその中の75%(16人中12人)は人工呼吸器から離脱できた。また治療群では、石灰化の促進を反映して、肋骨の石灰化や胸郭形体の改善が認められ(図2)、骨X線写真を用いて骨の健康状態を7段階で評価するRGI-C (Radiographic Global Impression of Change) スコアが高値であった。

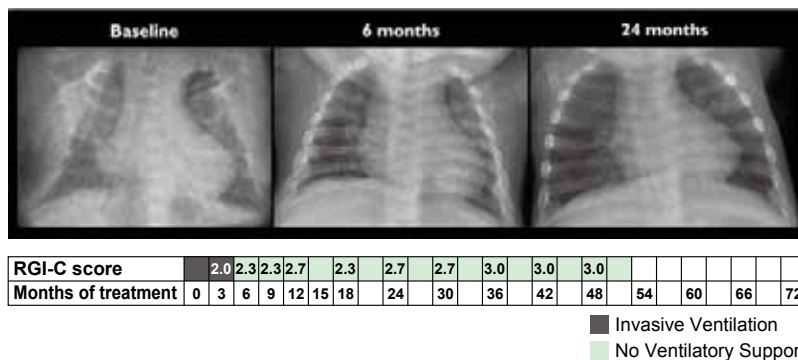
結論

アスホターゼアルファは乳幼児HPP患者の骨石灰化を促進し、呼吸機能や生存率を改善させる。



【図1】アスホターゼアルファによる乳幼児HPP患者の予後の改善

カプラン・マイヤー法を用いた解析により、アスホターゼアルファ投与群では既存対照群よりも有意に生存率が高くなることが示された。



【図2】アスホターゼアルファによる骨X線写真の変化

生後5週からアスホターゼアルファを投与された患者の骨X線写真の変化。投与後6ヵ月、24ヵ月において肋骨の石灰化や胸郭形体の改善が認められた。

コメント

本検討から、アスホターゼアルファによる酵素補充療法は、乳幼児期発症の重症HPP患者の生命予後の改善に有効であることが示された。HPP患者に対する出生直後からのアスホターゼアルファ投与の有効性が報告されていることから (Okazaki Y, et al. *Eur J Pediatr.* 2015), 胎児エコーなどを用いたHPPの早期診断が必要と考えられる。

東京大学医学部附属病院腎臓・内分泌内科 木下 祐加

原発性骨粗鬆症患者に対するミノドロン酸(月1製剤)単独治療とミノドロン酸(月1製剤)ビタミンK₂もしくはエルデカルシトール併用療法の投与12ヵ月の比較

Comparison of the effects of 12 months of monthly minodronate monotherapy and monthly minodronate combination therapy with vitamin K₂ or eldecalcitol in patients with primary osteoporosis

Ebina K, Noguchi T, Hirao M, Kaneshiro S, Tsukamoto Y, and Yoshikawa H

Journal of Bone and Mineral Metabolism Published Online: [August 25, 2015]

doi 10.1007/s00774-015-0710-2

© The Japanese Society for Bone and Mineral Research and Springer Japan 2015

■背景

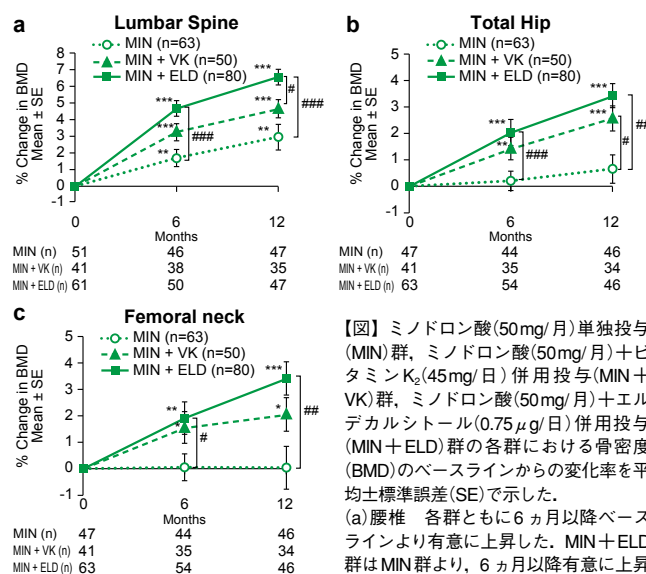
ビタミンK₂やビタミンD欠乏は骨粗鬆症患者において骨折の危険因子であるとされ、ビスホスホネート治療にビタミンK₂やビタミンDを添加すると骨折を予防できるという報告があるが、これらの薬剤の効果を比較した報告はない。本研究の目的はミノドロン酸(50mg/月)(MIN)単独投与とMINにビタミンK₂(45mg/日)(VK)もしくはエルデカルシトール(0.75μg/日)(ELD)を併用し、12ヵ月後の投与効果を比較することである。

■方法と結果

対象は骨粗鬆症治療歴のない原発性骨粗鬆症患者193名であり、主治医の判断により3群(MIN単独治療63名, MIN+VK治療50名, MIN+ELD治療80名)に分け、12ヵ月間、腰椎・大腿骨頸部骨密度(BMD)と血清骨代謝マーカーを測定した。3群間のベースラインBMDに有意差はなかった。12ヵ月後、各群のBMDベースラインからの平均変化率は、腰椎において2.93, 4.65, 6.55%, 股関節全体において0.66, 2.57, 3.42%, 大腿骨頸部において0.05, 2.06, 3.58%であった(図)。MIN+ELD群はMIN群と比較し、BMDは腰椎($p=0.0002$), 股関節全体($p=0.003$), 大腿骨頸部($p=0.004$)と有意に上昇した。また、MIN+VK群はMIN群より腰椎BMDは有意に上昇した($p=0.03$)。投与3ヵ月におけるserum procollagen type I N-terminal propeptide(PINP)の変化率はMIN+ELD群は-54.6%, MIN群は-37.4%であった。tartrate-resistant acid phosphatase isoform 5b levels (TRACP-5b)の変化率はMIN+ELD群は-52.9%, MIN群は-41.1%であった。2種の骨代謝マーカーはMIN+ELD群はMIN群より有意に低下した。さらに、12ヵ月時, intact parathyroid hormone (iPTH)の変化率は、MIN+ELD群は-12.3%, MIN群は14.0%であり、両群に有意差があった($p=0.01$)。

■結論

原発性骨粗鬆症患者に対し、投与12ヵ月において、MIN+VK, MIN+ELD治療はMIN単独治療に比べて、骨代謝マーカーであるPINP, TRACP-5bは低下していた。さらにMIN+ELD治療はMIN単独治療やMIN+VK治療に比べて、最も高い骨密度上昇効果があった。



【図】ミノドロン酸(50mg/月)単独投与(MIN)群, ミノドロン酸(50mg/月)+ビタミンK₂(45mg/日)併用投与(MIN+VK)群, ミノドロン酸(50mg/月)+エルデカルシトール(0.75μg/日)併用投与(MIN+ELD)群の各群における骨密度(BMD)のベースラインからの変化率を平均±標準誤差(SE)で示した。(a)腰椎 各群ともに6ヵ月以降ベースラインより有意に上昇した。MIN+ELD群はMIN群より、6ヵ月以降有意に上昇した。また12ヵ月において、MIN+ELD群はMIN+VK群より有意に上昇した。(b)股関節全体 MIN+VK群, MIN+ELD群は6ヵ月以降、ベースラインより有意に上昇した。また、6ヵ月以降、MIN+ELD群はMIN群より有意に上昇した。12ヵ月において、MIN+VK群はMIN群より有意に上昇した。(c)大腿骨頸部 MIN+VK群, MIN+ELD群は6ヵ月以降、ベースラインより有意に上昇した。また、MIN+ELD群はMIN群より6ヵ月以降、有意に上昇した。

■コメント

ビスホスホネート製剤は骨粗鬆症治療の第一選択薬であり、第3世代のビスホスホネート製剤であるミノドロン酸は日本で開発され、強い骨吸収抑制作用を有する。一方、ビタミンKやビタミンDの欠乏は骨折危険性の因子であり、閉経後女性の大半はビタミンDの欠乏状態にあると指摘されている。ビタミンDが充足するとビスホスホネート製剤投与の効果を高めるが、欠乏するとは副甲状腺ホルモン(PTH)の過剰分泌の原因となり、結果としてiPTHを上昇させ、骨吸収を亢進させると考えられている。本研究はMIN+ELD投与により、MIN単独治療に比較し、PINP, TRACP-5bが低下しており、iPTHは抑制されていたことから、より高い骨密度上昇効果が裏付けられた結果であった。本研究は日本国内の実臨床に即したデザインであり、ミノドロン酸とエルデカルシトール併用療法の重要性を示唆した。

東京大学大学院医学系研究科外科学専攻整形外科 大野 久美子

Keywords ミノドロン酸, ビタミンK₂, エルデカルシトール

本文目次

抗スクレロスチン抗体と副甲状腺ホルモンの幼年正常ラットの骨に対する時間的作用及び骨芽細胞系統への量的作用の差異

Differential temporal effects of sclerostin antibody and parathyroid hormone on cancellous and cortical bone and quantitative differences in effects on the osteoblast lineage in young intact rats

Ominsky MS, Brown DL, Van G, Cordover D, Pacheco E, Frazier E, Cherepow L, Higgins-Garn M, Aguirre JI, Wronski TJ, Stolina M, Zhou L, Pyrah I, and Boyce RW

Bone 81 : 380-391, 2015

© 2015 Elsevier Inc. All rights reserved.

背景

抗スクレロスチン抗体 (Scl-Ab) と副甲状腺ホルモン (PTH) はともに骨形成因子だが、両者の作用を骨組織及び特に細胞のレベルで直接比較した研究はまだない。本研究は両者を経時的に骨組織と骨芽細胞系統において比較した。

方法

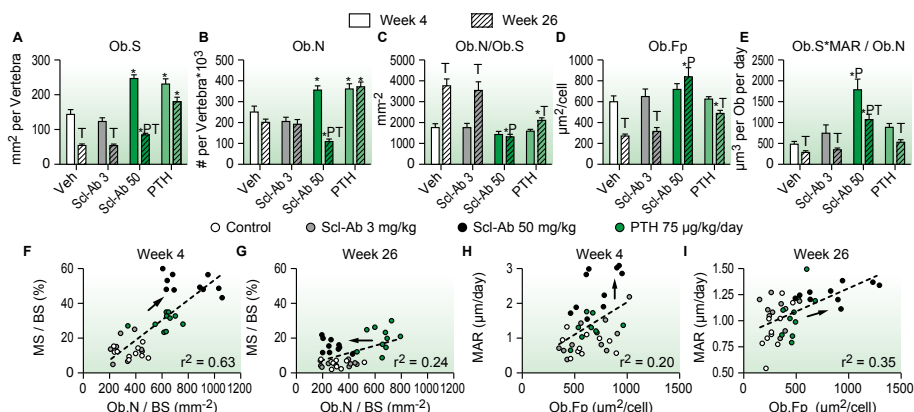
8週齢の雌雄のSprague-Dawleyラットを使用し、Scl-Ab3mg/kg (各性70匹)、Scl-Ab50mg/kg (各性38匹)、hPTH75mg/kg (各性20匹)、コントロール (各性20匹) に振り分け、4週及び26週で骨形態計測を行った。

また、立体解剖学的に免疫染色にてRUNX2陽性の骨芽細胞系統細胞を評価し、形態と局在によって骨芽細胞 (Ob) を識別した。

結果

組織学的計測 (L4腰椎と大腿遠位) の結果は、4週時点で骨石灰化面 (MS/BS)、石灰化速度 (MAR)、骨形成速度 (BFR/BS) の骨形成パラメーターでScl-Ab50mg/kgで他群と比べ有意な上昇が見られた。PTHでも上昇は認めたが、Scl-Ab50mg/kgよりは劣った。

骨芽細胞系統の立体解剖学的解析 (腰椎♀) の結果は、骨芽細胞数 (Ob.N) は4週ではScl-Ab50mg/kgはコントロールに比べ多数であったが、26週では低下していた。PTHは4週で比較的多数であり、26週でも低下が見られなかった。骨芽細胞表面 (Ob.S; 骨芽細胞に覆われた骨表面) は、Scl-Ab50mg/kg、PTH双方とも4週、26週でコントロールに比べ多数であった (図A, B)。破骨細胞密度 (Ob.N/Ob.S) を破骨細胞数/破骨細胞表面で定義し、また破骨細胞フットプリント (Ob.Fp) を破骨細胞密度の逆数 (ObひとつあたりのOb.S) で定義した。破骨細胞密度はコントロール、Scl-Ab3mg/kgで4週から26週にかけて増加したのに対し、Scl-Ab50mg/kg、PTHでは



【図】(A～E) 立体解剖学的解析結果。(F～G) Ob.N/BSとMS/BSの線形回帰分析。(H～I) MARとOb.Fpの線形回帰分析。

26週時点での増加が見られなかった (図C, D)。Ob.N/BSとMS/BSの線形回帰分析では両者に相関が見られ、Scl-Ab50mg/kgでは4週のグラフでは両者とも高い数値の位置にあるが、24週ではOb.N/BS値が低い方向に移行した (図F, G)。骨芽細胞当たりの骨形成面を表しているOb.FpとMARの回帰分析では、4週、26週ともに相関が見られ、Scl-Ab50mg/kgでは4週で回帰線よりもMAR高値の方向に、26週でOb.Fp高値の方向に移行していた (図H, I)。Ob.S*MAR/Ob.Nを新たな骨芽細胞活動性の指標として定義したところ、Scl-Ab50mg/kgでは4週でも26週でも有意に増加していた。

結果のまとめ

Scl-AbはPTH以上の骨形成作用を認めた。一方で、立体解剖学的解析の結果、単位体積あたりの骨芽細胞数はScl-Ab50mg/kgで経時的に減少していた。

コメント

Scl-Ab投与によって各骨芽細胞あたりの機能が向上していることが示唆された。

Scl-Ab投与に伴う骨芽細胞系統の発現抑制や機能の向上に関する詳細なメカニズムはまだ不明な点が多いため、今後の分子生物学的な解明が待たれる。

東京大学大学院医学系研究科外科学専攻整形外科 小山 卓摩

全身性リウマチ疾患患者における高用量グルコルチコイド治療早期の骨代謝状態の解析とアレンドロネートによる早期介入による有益性: EDITOR-J研究

Analysis of bone metabolism during early stage and clinical benefits of early intervention with alendronate in patients with systemic rheumatic diseases treated with high-dose glucocorticoid: Early diagnosis and Treatment of Osteoporosis in Japan (EDITOR-J) study

Tanaka Y, Mori H, Aoki T, Atsumi T, Kawahito Y, Nakayama H, Tohma S, Yamanishi Y, Hasegawa H, Tanimura K, Negoro N, Ueki Y, Kawakami A, Eguchi K, Saito K, and Okada Y

Journal of Bone and Mineral Metabolism Published online: [August 26, 2015]

doi 10.1007/s00774-015-0709-8

© 2015, The Japanese Society for Bone and Mineral Research and Springer Japan

研究目的

全身性の結合組織疾患患者において、高用量グルコルチコイド治療開始直後の骨代謝状態の変化を観察し、またステロイド治療開始早期からビスホスホネートやビタミンD誘導体により骨粗鬆症治療介入を行うことの有益性の評価を目的に、前向き多施設研究を実施した。

方法

プレドニゾロン換算で20 mg/日以上 of グルコルチコイドの初回治療を受ける、全身性の結合組織疾患に罹患した18歳以上の女性患者110名を本無作為対照化研究の対象とした。グルコルチコイド治療開始1週間後に、次の3つの治療群に対象患者を無作為に振り分けた: アルファカルシドール1 µg/日治療群 (34名), アレンドロネート35 mg/週治療群 (38名), および上記併用治療群 (38名)。治療6ヵ月後の腰椎骨密度の変化と12ヵ月後の骨折率を主要観察項目とした。

結果

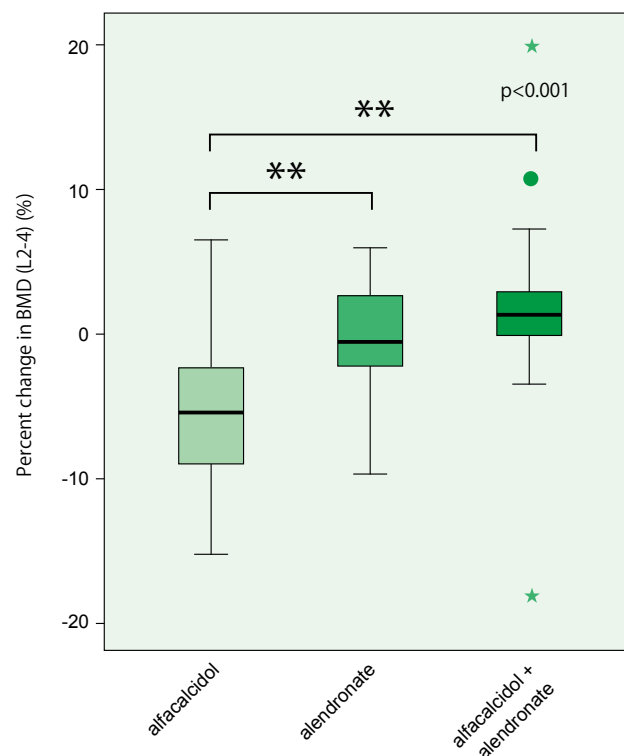
グルコルチコイド治療開始1週間後において、骨形成マーカーでは有意な変化を認めなかったが、骨吸収マーカーおよびPTHの有意な増加を認めた。グルコルチコイド治療開始1週間後より薬物治療を開始し、6ヵ月後においてアレンドロネートを含む治療群の骨吸収および骨形成マーカーの変化率は、アルファカルシドール群よりも有意に低下し、腰椎骨密度が有意に増加した(図)。一方PTHの変化率では、アレンドロネート群と異なり、併用群では有意な増加を認めなかった。また併用群では、12ヵ月の治療期間中の骨折率の減少を認めた。

結語

アレンドロネートとアルファカルシドール併用療法は、高用量グルコルチコイド療法が行われた1年間を通じて、亢進した病的骨代謝状態を改善し、骨密度増加を導き、骨折率の増加を有意に抑制する治療法と思われる。

コメント

ヒトにおけるステロイドの骨代謝への影響を、倫理に十分配慮しながら観察・介入した貴重な報告である。高



【図】アルファカルシドール(1 µg/日)治療、アレンドロネート(35 mg/週)治療および併用治療6ヵ月後の第2～4腰椎変化率。アルファカルシドール群と比較して、アレンドロネートを含む治療群では、第2～4腰椎において有意に骨密度が増加した。

用量グルコルチコイド治療では、1週間たらずの曝露期間でも、未介入では有意な骨吸収の亢進が生じており、ステロイド投与と同時に治療介入することが重要であることを示唆している。また本研究では、骨代謝マーカーや骨密度の増加量には有意差はないものの、ビスホスホネートに活性型ビタミンDを併用すると、単独投与と比較してステロイド治療後のPTHの増加が抑制され、全骨折を予防しうる可能性を示唆している。医原性であるステロイド治療の副作用予防の観点から、ステロイド性骨粗鬆症の管理と治療ガイドラインでは明示されていないが、併用療法は一考に値する治療法と思われる。

島根大学医学部内科学講座内科学第一 山本 昌弘

Keywords グルコルチコイド, アレンドロネート, アルファカルシドール, 併用療法

本文目次

日本人関節リウマチ患者に対するデノスマブの効果：骨びらん抑制効果を立証するためのメトトレキサート使用関節リウマチ患者に対するAMG162（デノスマブ）の用量反応試験－12カ月の多施設二重盲検ランダム化プラセボ対照第2相試験

Effect of denosumab on Japanese patients with rheumatoid arthritis: a dose-response study of AMG 162 (denosumab) in patients with rheumatoid arthritis on methotrexate to validate inhibitory effect on bone erosion (DRIVE)-a 12-month, multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase II clinical trial

Takeuchi T, Tanaka Y, Ishiguro N, Yamanaka H, Yoneda T, Ohira T, Okubo N, Genant HK, and van der Heijde D

Annals of the Rheumatic Diseases Published Online First: [November 19, 2015]

doi: 10.1136/annrheumdis-2015-208052

© Article author (or their employer) 2015. Produced by BMJ Publishing Group Ltd (& EULAR) under licence.

背景

関節リウマチ (RA) の骨破壊は破骨細胞の活動性増加によることが知られている。デノスマブはreceptor activator of nuclear factor kappa B ligand (RANKL) に対する完全ヒト型モノクローナル抗体で、骨吸収を抑制する。メトトレキサート (MTX) 使用RA患者に対するデノスマブの第2相試験はアメリカ、カナダで行われ、プラセボ群と比較して、骨びらの進行を抑制した。しかしながら、日本人RA患者における試験はいまだ行われておらず、また、より頻回にデノスマブを投与した場合の効果、安全性に関しても調べられていない。そのため、日本人RA患者に対して、3つのデノスマブ投与レジメン (デノスマブ60mgを6ヵ月毎 [Q6M], 3ヵ月毎 [Q3M], 2ヵ月毎 [Q2M] に投与) による臨床研究を行った。

方法

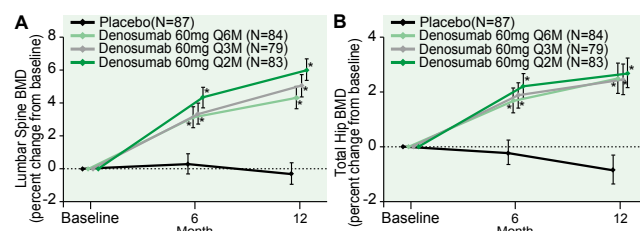
日本人RA患者350人を、グルチコルチコイド使用、リウマチ因子をベースラインとした層別ランダム分けによりプラセボ、Q6M、Q3M、Q2Mの4群に割り付けた。全患者MTX投与を継続し、400IU/day以上のビタミンD、600mg/day以上のカルシウムも投与した。

結果

modified Sharp scoreのベースラインからの変化はデノスマブ群で有意に抑制され、12ヵ月で上昇しなかった患者の割合は62.5%, 78.8%, 80.5%, 83.5% (プラセボ, Q6M, Q3M, Q2Mの順。それぞれプラセボと比較して $p=0.0173$, 0.0099 , 0.0019) であった。mTSS (modified Total Sharp Score) は12ヵ月時点でデノスマブ群で有意に抑制された。

ACR20/50/70は、12ヵ月時点でのQ2M群および6ヵ月時点でのQ3M、Q2M群のACR20のみが有意な改善を示した。DAS28-CRP, HAQ-DIは有意差がみられなかった。

腰椎、股関節のBMDのベースラインからの上昇率は6ヵ月、12ヵ月時点でデノスマブ群で有意に高かった (図)。また、その上昇はグルチコルチコイド使用の有無に関わらなかった。CTX-I (C-telopeptide of type I collagen), PINP (N-propeptide of type I collagen) はすべてのタイムポイントでデノスマブ群で有意に低下した。COMP (cartilage oligomeric matrix protein) は有意差がみられ



【図】 骨密度のベースラインからの変化率 (%). (A) 腰椎 (B) 股関節. N: 1回以上の当該加療を受け、骨密度のベースライン計測およびそれ以降の1回以上の骨密度計測を受けた患者数. * $p<0.0001$ 対プラセボ

なかったが、これはmodified JSN scoreの結果と合致している。CTX-II/Cre (C-telopeptide of type II collagen/Creatinine) は1ヵ月時点でデノスマブ群で有意に低下したが、この結果は予想外であり、骨破壊抑制が軟骨破壊も抑制することを示唆しているのかもしれない。

副作用は同等であった。非典型大腿骨骨折、顎骨壊死はみられなかった。無症候性の軽度血清カルシウム低値はQ3M群で1例のみみられた。血清アルブミン補正カルシウム値は正常範囲内を推移したが、ベースラインからの低下はみられた。Q6M群では6ヵ月、12ヵ月でベースラインに戻ったが、Q3M群、Q2M群では6ヵ月、12ヵ月でベースラインに戻りつつあったが、やや低値のままであった。

Q6M群では血清デノスマブ濃度のトラフ値は定量限界以下まで下がったが、Q3M群、Q2M群では定量可能な値を維持した。AUCによると、6ヵ月時点で、Q6M群では蓄積はみられなかったが、Q3M群では1.3倍の、Q2M群では1.7倍の蓄積がみられた。

考察

DMARDsによる治療で不十分な患者は生物学的製剤での治療が行われるが、様々な理由で生物学的製剤が使用できない患者がいる。本研究はMTX治療にデノスマブ投与を追加した治療がRA患者の関節破壊予防治療の選択肢の一つとなりうる可能性を示している。

コメント

本研究は日本人RA患者に対するデノスマブの効果、安全性を検討した初めての研究である。RA患者の関節破壊予防治療の選択肢としてのデノスマブの可能性を示す結果である。東京大学大学院医学系研究科外科科学専攻整形外科 中村 伸哉

関節リウマチ患者に対する人工関節置換術周術期のTNF- α 阻害薬投与：システマティックレビューとメタアナリシス

Management of perioperative tumour necrosis factor α inhibitors in rheumatoid arthritis patients undergoing arthroplasty: a systematic review and meta-analysis

Goodman SM, Menon I, Christos PJ, Smethurst R, and Bykerk VP

Rheumatology 55 : 573-582, 2016

© The Author 2015. Published by Oxford University Press on behalf of the British Society for Rheumatology. All rights reserved.

背景

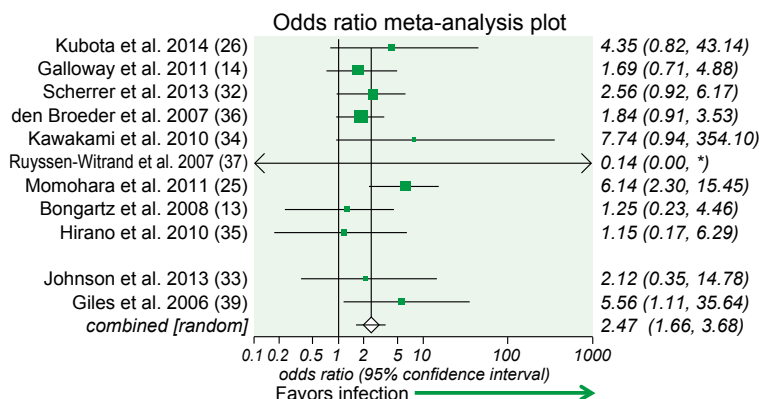
TNF- α 阻害薬 (TNFi) 使用中の関節リウマチ (RA) 患者に対し人工膝関節置換術 (TKA) や人工股関節置換術 (THA) をはじめとした待機的手術が行われることは多い。術後感染のリスクを最小限にするためには術前の TNFi 休薬が望ましいと考えられるが休薬により RA 疾患活動性の増悪が懸念される。待機的な整形外科手術を受けた RA 患者における手術部位感染に対する TNFi 投与の影響をシステマティックレビューとメタアナリシスによって明らかにすることを目的とした。

方法

2014年5月までの時点でPUBMED, EMBASE, The Cochrane Central Register of Controlled Trialsの各データベースに含まれる文献をシステマティックレビューの対象とした。2人の査読者が個別にタイトルと要約のレビューを行って論文を抽出し、さらに詳細な解析を行った。RA患者に対する整形外科手術の術前 TNFi 投与の有無が術後感染に対して及ぼす影響について検討した論文を解析に含めた。臨床試験の質はOxford Centre for Evidence-Based Medicine Levels of Evidenceにより評価した。各試験で得られたオッズ比のメタアナリシスを行い、ランダム効果モデルにより統合オッズ比を計算した。

結果

2004の文献から観察研究8, 患者対象研究3, 計11の試験を採用した。Oxford Levels of Evidenceによるとバイアスのレベルは8つの試験で低く, 3つの試験で中等度であった。統計学的に有意な出版バイアスはなかった。3,681例のRA患者は整形外科手術 (主にTKAあるいはTHA) の術前 (3ヵ月以内) にTNFiの投与を受けており, 4,310例のRA患者は術前にTNFiの投与を受けていなかった。メタアナリシスによってTNFi投与群はTNFi非投与群に比較して手術部位感染の発生リスクが高いという結果が得られた (オッズ比2.47; 95%信頼区間1.66, 3.68; $P < 0.0001$) (図)。



【図】メタアナリシス結果

各試験の結果算出された術前TNFi投与による手術部位感染発生のオッズ比をフォレストプロットで示している。

考察

本報告は手術部位感染に対する術前 TNFi 投与の影響を調べた最初のシステマティックレビューである。複数の試験から得られたデータを統合した結果, 待機的な整形外科手術の術前にTNFi投与を受けたRA患者では手術部位感染の発生リスクが高いことが示され, TNFiの術前休薬を支持するものとなった。前向き試験によりこれらの結果を確認し, TNFiの最適な術前休薬期間と術後再開時期を, 高疾患活動性・ステロイド使用・喫煙・糖尿病といったRA患者の感染に対する他のリスクファクターとの関わりとともに明らかにすることが必要である。

コメント

日本リウマチ学会による「関節リウマチ診療ガイドライン2014」では「整形外科手術の周術期には生物学的製剤の休薬を推奨する (推奨の強さ: 弱い)」としており本報告はTNFiについてこの推奨を支持する結果となっている。しかし, 適正な術前休薬期間については未だ不明であり, 実際にRA患者の手術を計画する際には, 特に待機的手術のなかでもなるべく急いで行いたい準緊急といえるような手術では, 休薬と手術のタイミングを決定するのは悩ましいところである。

東京大学大学院医学系研究科外科学専攻整形外科 内藤 昌志

抗カルバミル化蛋白抗体は早期炎症性関節炎患者の長期的な機能障害と疾患活動性亢進に関連する：Norfolk Arthritis レジスターから

Anticarbamylated protein antibodies are associated with long-term disability and increased disease activity in patients with early inflammatory arthritis: results from the Norfolk Arthritis Register

Humphreys JH, Verheul MK, Barton A, MacGregor AJ, Lunt M, Toes RE, Symmons DP, Trouw LA, and Verstappen SM

Annals of the Rheumatic Diseases Published Online First: [Oct 6, 2015]

doi: 10.1136/annrheumdis-2015-207326

© Article author (or their employer) 2015. Produced by BMJ Publishing Group Ltd (& EULAR) under licence

■目的

抗カルバミル化蛋白（抗CarP）抗体は、最近炎症性関節炎患者で確認された新たな自己抗体の一つである。本研究の目的は、炎症性多発性関節炎（IP）患者コホートにおける20年以上のフォローアップ期間中の機能障害や疾患活動性の長期予後と本抗体の関連を調査することである。

■方法

Norfolk Arthritis レジスターには、1990年から2009年の間に4週間以上にわたって2ヵ所以上の関節腫脹を新たに発症した成人を組み込んだ。調査開始時に、Health Assessment Questionnaire (HAQ)と28 joint disease activity score (DAS28)を評価するとともに、CRP、リウマトイド因子（RF）、抗シトルリン化蛋白抗体（ACPA）、抗CarP抗体を測定した。さらにHAQスコアとDAS28を20年以上にわたり定期的に評価した。抗CarP抗体と縦断的なHAQやDAS28スコアとの関連は、年齢、性、喫煙状態、組み込み年、ACPAで調整し、一般化推定方程式を用いて検討した。

■結果

1,995名が組み込まれ、1,310名（66%）が女性であった。抗CarP抗体はより強い機能障害（図）やより高い疾患活動性と有意に関連し、HAQ多変量β係数（95%信頼区間）は0.12（0.02～0.21）で、ACPA陰性群でも有意な関連を認めた（表）。RFおよびACPAと抗CarP抗体との関連は変量効果モデルでは相加的であった。

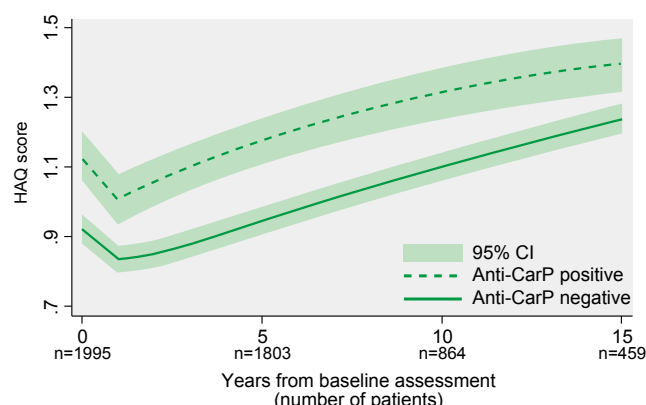
■結論

抗CarP抗体はIP患者の機能障害および疾患活動性亢進と関連する。本研究の結果は、抗CarP抗体を測定することが長期的に予後不良となるACPA陰性患者を見分けるのに有用である可能性を示唆している。さらに抗CarP抗体はRFとACPAに対して相加的な情報を提供した。

■コメント■

関節リウマチを含むIP患者の新たな予後不良因子として抗CarP抗体を活用できる可能性が示された。

近畿大学医学部奈良病院整形外科・リウマチ科 神谷 正人



【図】抗CarP抗体の有無とHAQスコアの経過（単変量一般化推定方程式モデルから）

Anti-CarP, 抗カルバミル化蛋白；GEE, 一般化推定方程式；HAQ, 健康評価質問表

【表】抗CarP抗体陽性とHAQおよびDAS28との関連

	Total cohort β (95% CI)	ACPA +ve β (95% CI)	ACPA -ve β (95% CI)
HAQ			
Univariate	0.21 (0.14 to 0.29)**	0.10 (-0.04 to 0.24)	0.18 (0.04 to 0.32)*
Multivariate†	0.12 (0.02 to 0.21)*	0.09 (-0.05 to 0.23)	0.14 (0.01 to 0.27)*
DAS28			
Univariate	0.38 (0.26 to 0.50)**	0.23 (0.01 to 0.46)*	0.11 (-0.11 to 0.34)
Multivariate*†	0.23 (0.07 to 0.39)*	0.25 (0.03 to 0.48)*	0.18 (-0.03 to 0.40)

【表】 *p<0.05 **p<0.001

†年齢、性、喫煙状態、罹病期間の多項式、組み込み年で調整

+ve, 陽性, -ve, 陰性；ACPA, 抗シトルリン化蛋白抗体；Anti-CarP, 抗カルバミル化蛋白；DAS28, 28関節疾患活動性スコア；HAQ, 健康評価質問表

Keywords

抗カルバミル化蛋白抗体, 炎症性多発性関節炎, 機能障害, 疾患活動性, 長期予後

本文目次

治療前の血清 IFN- β/α 比の増加は関節リウマチにおける腫瘍壊死因子 α 阻害薬に対する非感受性を予測する

Increased pretreatment serum IFN- β/α ratio predicts non-response to tumour necrosis factor α inhibition in rheumatoid arthritis

Wampler Muskardin T, Vashist P, Dorschner JM, Jensen MA, Chrobot BS, Kern M, Curtis JR, Danila MI, Cofield SS, Shadick N, Nigrovic PA, St Clair EW, Bingham CO 3rd, Furie R, Robinson W, Genovese M, Striethorn CC, O'Dell JR, Thiele GM, Moreland LW, Levesque M, Bridges SL Jr, Gregersen PK, and Niewold TB

Annals of the Rheumatic Diseases Published Online First: [Nov 16, 2015]

doi: 10.1136/annrheumdis-2015-208001

© Article author (or their employer) 2015. Produced by BMJ Publishing Group Ltd (& EULAR) under licence

■目的

I 型インターフェロン (IFN) は関節リウマチ (RA) における生物学的製剤治療に対する反応性を予測できる可能性があることがこれまでの研究により示唆されている。治療開始前に反応性を予測できれば大きな発展を意味する。

■方法

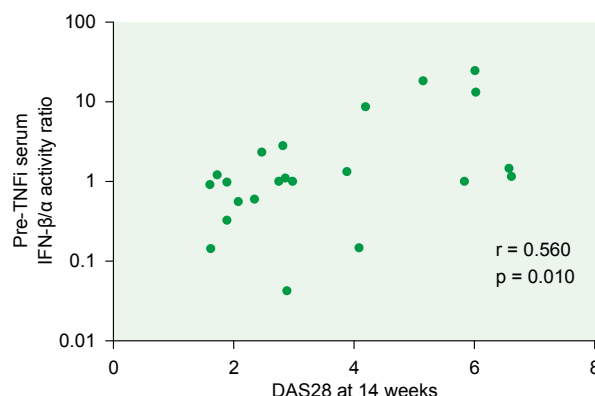
Auto-immune Biomarkers Collaborative Network Consortium の 32 名の RA 患者の血清を試験対象とし、Treatment Efficacy and Toxicity in Rheumatoid Arthritis Database and Repository registry の 92 名の患者血清を検証に用いた。さらに、抗腫瘍壊死因子 (TNF) - α 阻害薬の有効性を治療開始後 14 週目の欧州リウマチ学会の改善基準による good response と no response について評価した。検証群については 12 週目の good, moderate, no response について評価した。血清の I 型 IFN 総量、INF- α 、INF- β 活性を functional reporter cell assay を用いて測定した。

■結果

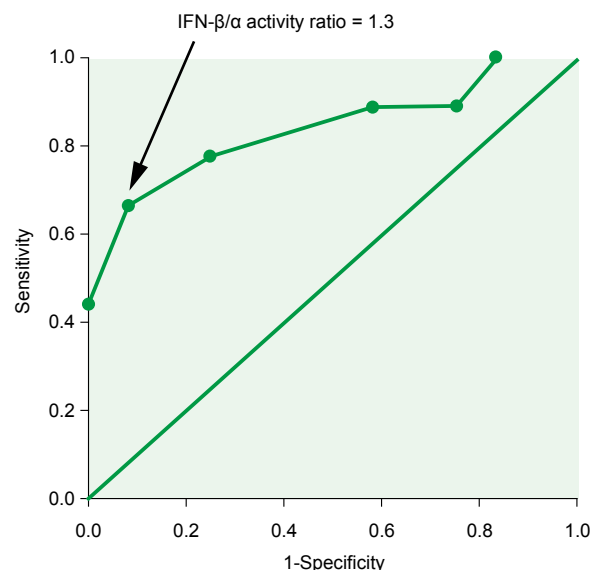
試験対象例では、治療前の IFN- β/α 活性比が高いほど TNF 阻害薬の反応性は悪かった ($P=0.013$) (図 1)。抗環状シトルリン化ペプチド抗体の値や抗 TNF 阻害薬の種類による差はなかった。受信者動作特性曲線により最適な IFN- β/α 活性比のカットオフ値は 1.3 であった (図 2)。検証例では、IFN- β/α 活性比が 1.3 を超す例では good response に比し no response が有意に多かった ($OR=6.67$, $p=0.018$)。試験対象例で moderate または good response に比し no response となる特異度は 77%, 感度は 45% であった。試験対象例と検証例のメタ解析では IFN- β/α 活性比が強力な予測因子であることが確認された ($p=0.005$)。

■結論

治療前の血清 IFN- β/α 活性比は TNF 阻害薬に対する応と強力に関連した。



【図1】 治療前の血清インターフェロン (IFN)- β/α 活性比と 14 週目の疾患活動性スコア 28 (DAS28) のノンパラメトリック相関。r 値と p 値は Spearman の順位相関係数による。Pre-TNF: 腫瘍壊死因子 (TNF)- α 阻害薬投与前。



【図2】 治療前のインターフェロン (IFN)- β/α 活性比が 14 週目の欧州リウマチ学会基準による反応性を規定する受信者動作特性曲線。IFN- β/α 活性比 1.3 に対応する点を矢印で示す。

■コメント

TNF 阻害薬の反応性を、治療前の血清 IFN 活性値で予測できることを明らかにした論文である。今後より大規模な調査が待たれる。

近畿大学医学部奈良病院整形外科・リウマチ科 上野貢生

Keywords

関節リウマチ, 腫瘍壊死因子阻害薬, インターフェロン β , インターフェロン γ

本文目次

アバタセプトまたはアダリムマブ皮下注治療の有効性評価に対する治療開始時の抗環状シトルリン化ペプチド-2抗体価の影響：AMPLE試験2年の結果から

Impact of baseline anti-cyclic citrullinated peptide-2 antibody concentration on efficacy outcomes following treatment with subcutaneous abatacept or adalimumab: 2-year results from the AMPLE trial

Sokolove J, Schiff M, Fleischmann R, Weinblatt ME, Connolly SE, Johnsen A, Zhu J, Maldonado MA, Patel S, and Robinson WH

Annals of the Rheumatic Diseases 75 : 709-714, 2015

© Article author (or their employer) 2015. Produced by BMJ Publishing Group Ltd (& EULAR) under licence

■目的

AMPLE試験（生物学的製剤未投与関節リウマチ患者に対するアバタセプト対アダリムマブ比較試験）2年の結果から、メトトレキサート（MTX）併用下にアバタセプトまたはアダリムマブを投与した患者の臨床的な結果と治療開始時の抗環状シトルリン化ペプチド-2（CCP2）抗体価の関連を検討する。

■方法

治療開始時の抗CCP2抗体価を測定し、抗体陽性患者を抗体価の濃度順に均等に4分位Q1～Q4群に分けた。それらの状況と疾患活動性と機能障害の治療開始時からの変化率および寛解率との関連を分析した。

■結果

治療開始時の患者背景は各群で概ね差はなかった。2つの治療群ともに、抗体陰性患者は陽性患者よりも改善

が少なかった（図）。2年経過時、疾患活動性と機能障害の改善、寛解率はアバタセプト治療群でQ1～Q3では同程度であったが、Q4ではより高かった。対照的に、アダリムマブ治療群では全群で治療効果は同様であった。

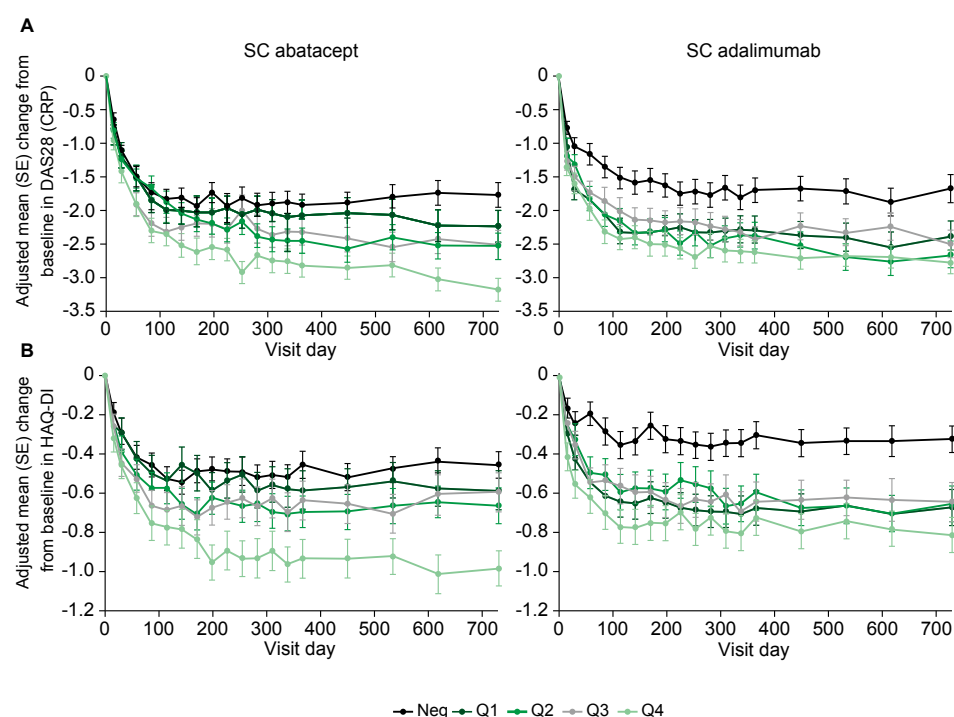
■結論

AMPLE試験において、治療開始時の抗CCP2抗体陽性はアバタセプト、アダリムマブの良好な反応と関連していた。アバタセプト投与群では、治療開始時の抗CCP抗体価が低値よりも最高値の患者で良好な反応を示したが、アダリムマブでは同様の関連は認めなかった。

■コメント■

生物学的製剤の選択に際し、治療開始時の抗CCP2抗体価が参考となる可能性が示された。

近畿大学医学部奈良病院整形外科・リウマチ科 神谷 正人



【図】(A)治療開始時の環状シトルリン化ペプチド-2(CCP2)-IgGの有無、陽性4分位別の Disease Activity Score 28(C reactive protein; DAS28(CRP))の治療開始時からの調整後平均変化率(SE)。729日目での推定平均治療差は、Q1～Q3群対Q4群でアバタセプト皮下注 $p=0.003$ 、アダリムマブ皮下注 $p=0.358$ ；抗CCP抗体陰性(Neg)対Q4群でアバタセプト皮下注 $p<0.0001$ 、アダリムマブ皮下注 $p=0.0006$ 。(B)治療開始時のCCP2-IgGの有無、陽性4分位別の Health Assessment Questionnaire Disability Index (HAQ-DI)の治療開始時からの調整後平均変化率(SE)。729日目での推定平均治療差は、Q1～Q3群対Q4群でアバタセプト皮下注 $p=0.021$ 、アダリムマブ皮下注 $p=0.735$ ；抗CCP抗体陰性対Q4群でアバタセプト皮下注 $p=0.002$ 、アダリムマブ皮下注 $p=0.005$ 。治療開始時からの調整後平均変化は、因子として治療法とDAS28(CRP)階層、共変量として治療開始時の値を用いた共分散分析法により各時点で決定した。各群の患者数はQ1(28-235)=97；Q2(236-609)=97；Q3(613-1046)=97；Q4(1060-4894)=97；Neg(<25)=120。

Keywords

抗CCP2抗体、関節リウマチ、アダリムマブ、アバタセプト、疾患活動性、機能障害

本文目次

シトルリン化タンパクに対する自己抗体はケモカイン依存性の機序を介して炎症とは独立して関節痛を誘導する

Autoantibodies to citrullinated proteins induce joint pain independent of inflammation via a chemokine-dependent mechanism

Wigerblad G, Bas DB, Fernades-Cerqueira C, Krishnamurthy A, Nandakumar KS, Rogoz K, Kato J, Sandor K, Su J, Jimenez-Andrade JM, Finn A, Bersellini Farinotti A, Amara K, Lundberg K, Holmdahl R, Jakobsson PJ, Malmström V, Catrina AI, Klareskog L, and Svensson CI

Annals of the Rheumatic Diseases 75 : 730-738, 2015

© Article author (or their employer) 2015. Produced by BMJ Publishing Group Ltd (& EULAR) under licence

■目的

自己免疫疾患における慢性疼痛はしばしば炎症との分離を認め、本研究では、関節リウマチ (RA) で認められるシトルリン化タンパクに対する自己抗体 (ACPA) が炎症と独立して直接疼痛誘発に関与するかを検討した。

■方法

ヒト RA と健常ドナーから得た抗体およびマウス化モノクローナル ACPA をマウスに投与し、疼痛様行動を最大 28 日間モニターするとともに病理組織学的検討を行った。培養マウス破骨細胞を抗体で刺激し各種因子の放出を検討した。CXCR1/2 (IL8 受容体) 阻害剤である reparixin の効果を検討した。

■結果

ヒトおよびマウス化 ACPA を注射されたマウスは炎症の非存在下でも疼痛様行動を示した。この効果は

ACPA による破骨細胞の活性化と侵害受容性ケモカインである CXCL1 (ヒト IL-8 アナログ) の遊離と関連し、reparixin で抑制された (図)。

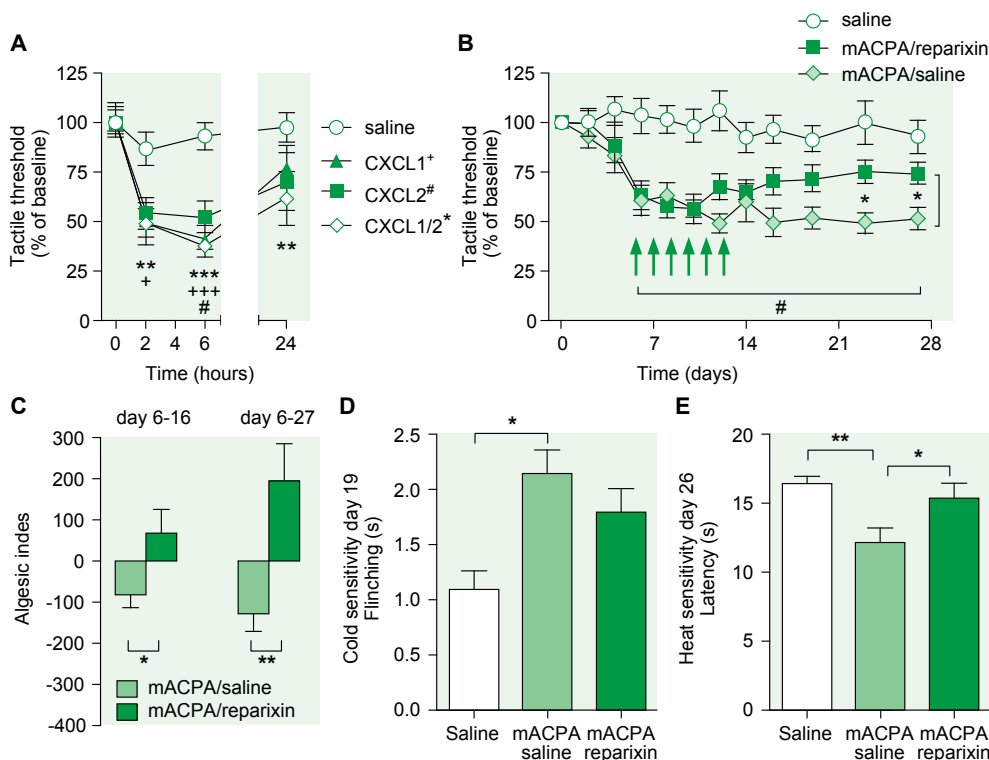
■結論

本結果から、自己抗体依存性に破骨細胞から放出される CXCL1 / IL-8 が感覚ニューロンを活性化することによって疼痛を誘発させることを示唆された。この新たな疼痛経路の同定は、RA の疼痛治療および自己抗体産生と / または破骨細胞活性化に関連する他の疼痛性疾患に新たな道を開く可能性がある。

■コメント■

RA に対する疼痛管理に新たな可能性が示された論文と言える。

大阪リハビリテーション病院整形外科 西坂 文章



【図】 ACPA により誘発される過敏性に対する reparixin の効果。CXCL1 (30ng, n=7), CXCL2 (30ng, N=7) または CXCL1/2 混合 (各 15ng, n=10), 生理食塩液 (n=20) を足関節に注射した後の機械的な過敏性 (A)。マウスモノクローナル ACPA D10,B2 (各 1mg, n=18) または生理食塩液 (n=9) 静注後 6 日より 6 日間 reparixin (30mg/kg/day, s.c., n=9) または生理食塩液 (n=9) で治療した機械的感覚 (B)。6 日目より reparixin または生理食塩液により治療した際の曲線下面積を比較した痛覚過敏性指数 (C)。19 日目と 26 日目にテストした寒冷 (D) と熱 (E) 感覚。結果は 2 つの別の実験からのものである。mACPA/生理食塩液と生理食塩液の間の統計的有意差 (分散分析 < ANOVA > の双方向分析) は # で、mACPA / 生理食塩液と mACPA/reparixin の有意差は * で示す (A)。生理食塩液 (n=5) または reparixin (30mg/kg/day, s.c., n=5) を投与したマウスの 6-12 日目の機械的感覚 (E)。データは平均土標準誤差で示す。* または # p<0.05, ** p<0.01 と *** p<0.001 は生理食塩液と比較した。ACPA は抗シトルリン化タンパク抗体。

非特異的な筋骨格系症状を有する抗CCP抗体陽性例において臨床的関節炎の発症を予測する：前向きコホート観察研究

Predicting the development of clinical arthritis in anti-CCP positive individuals with non-specific musculoskeletal symptoms: A prospective observational cohort study

Rakieh C, Nam JL, Hunt L, Hensor EM, Das S, Bissell LA, Villeneuve E, McGonagle D, Hodgson R, Grainger A, Wakefield RJ, Conaghan PG, and Emery P

Annals of the Rheumatic Diseases 74 : 1659-1666, 2015
 © Article author (or their employer) 2015. Produced by BMJ Publishing Group Ltd (& EULAR) under licence

目的

非特異的な筋骨格系（MSK）症状を有する抗環状シトルリン化ペプチド（CCP）抗体陽性例において炎症性関節炎（IA）への進行を調査し、その進行を予測するための実践的モデルを開発する。

方法

対象例について前向きコホート観察研究を実施した。ベースライン時に臨床、画像、血清学的パラメーターを評価し、IAへと進行する予測因子を同定し患者を層別化するためのリスクスコアを開発するためにCox回帰分析を用いた。

結果

100例の連続した患者（女性73人；平均51歳）を中央値で19.8ヵ月間経過観察し、50例が中央値7.9ヵ月後にIAを発症した。ほとんどの例は関節リウマチの分類基

準を満たした。IAへの進行モデルは、手足の関節腫脹・30分以上の朝のこわばり・自己抗体の高値陽性・超音波パワードップラー信号の4つの変数を用いて考案した。中等度リスク（1～2）で31％，高リスク（3以上）で62％がIAに進行したのに比し，低リスクでは全例進行しなかった（表）。

結論

IAへの進行リスクは，臨床診療で利用できるデータを使って定量化可能であった。本リスクスコアは早期の治療介入のための患者層別化に用い得る可能性がある。

コメント

非特異的症状と抗CCP抗体を有する患者が関節リウマチを含む炎症性関節炎を発症する新たな予後予測因子スコアが提唱されたが，より大規模の研究が待たれる。

東成病院整形外科 野中 藤吾

【表】 ベースラインのリスクスコアごとの12もしくは24ヵ月の照会の範囲内あるいはフォローアップ中のいずれかの時期において炎症性関節炎(IA)へと進行した患者の割合。

Risk score	Proportion progressing (n/N(%)) of patients who progressed to IA:			Risk category: % progressed	
	Wthin 12 months	Within 24 months	At any time		
PD in model					
0	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	Low:	0%
1	1/3 (33%)	1/3 (33%)	1/3 (33%)	Mod:	31%
2	6/26 (23%)	8/26 (31%)	8/26 (31%)	High:	62%
3	10/34 (29%)	14/34 (41%)	19/34 (56%)		
4	11/23 (48%)	15/23 (65%)	16/23 (70%)		
5	6/9 (67%)	6/9 (67%)	6/9 (67%)		
SE in model					
0	0/3 (0%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)	Low:	0%
1	0/11 (0%)	1/11 (9%)	2/11 (18%)	Mod:	40%
2	10/32 (31%)	13/32 (41%)	15/32 (47%)	High:	63%
3	12/33 (36%)	17/33 (52%)	20/33 (61%)		
4	8/13 (62%)	9/13 (69%)	9/13 (69%)		
PD and SE in model					
0	0/3 (0%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)	Low:	0%
1	0/8 (0%)	0/8 (0%)	0/8 (0%)	Mod:	50%
2	7/25 (28%)	9/25 (36%)	11/25 (44%)		
3	9/31 (29%)	14/31 (45%)	17/31 (55%)		
4	10/19 (53%)	13/19 (68%)	14/19 (74%)	High:	72%
5	4/6 (67%)	4/6 (67%)	4/6 (67%)		
Neither PD or SE in model					
0	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	Low:	0%
1	1/4 (25%)	1/4 (25%)	1/4 (25%)	Mod:	40%
2	9/36 (25%)	13/36 (36%)	15/36 (42%)	High:	62%
3	12/35 (34%)	17/35 (49%)	21/35 (60%)		
4	12/20 (60%)	13/20 (65%)	13/20 (65%)		

PD, パワードップラー；SE, 共有エピソード

Keywords 非特異的筋骨格系症状, 抗CCP抗体, 予後予測因子, 炎症性関節炎, 関節リウマチ

本文目次

FGFシグナルはオートファジーを介して骨の成長を制御する

FGF signalling regulates bone growth through autophagy

Cinque L, Forrester A, Bartolomeo R, Svelto M, Venditti R, Montefusco S, Polishchuk E, Nusco E, Rossi A, Medina DL, Polishchuk R, De Matteis MA, and Settembre C

Nature 528 : 272-275, 2015

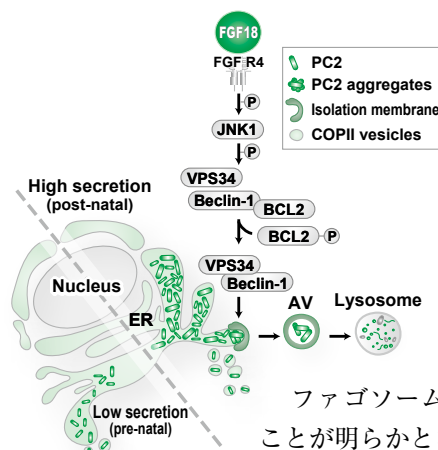
© 2015, Rights Managed by Nature Publishing Group

■背景・目的

オートファジーは、隔離膜が細胞内小器官などを包み込んで小胞（オートファゴソーム）を形成し、リソソームとの融合により内容物を溶解するタンパク質分解機構である。最近の研究により、オートファジーは飢餓時の栄養源確保のみならず、代謝回転の制御や異常タンパク質の分解・除去など様々な生理機能を持つことが明らかにされている。本研究では、骨の成長に密接にかかわる軟骨細胞でのオートファジーの役割について検討を行った。

■結果

1. オートファゴソームの特異的マーカー遺伝子LC3を蛍光標識したトランスジェニックマウス (GFP-LC3マウス) においては、出生後の骨成長に伴って成長板軟骨細胞のオートファゴソーム形成が増加することが明らかとなった。2. オートファジーに必須の遺伝子 *Atg7* を、軟骨細胞特異的に欠損させたマウス (*Col2a1-Cre;Atg7^{fl/fl}* マウス) および間葉系細胞の凝集期に欠損させたマウス (*Prx1-Cre;Atg7^{fl/fl}* マウス) ではコントロールマウスに比較して、四肢の短縮が認められた。しかし、これらマウスの成長板軟骨細胞の増殖およびアポトーシスに異常は認めなかった。3. *Prx1-Cre;Atg7^{fl/fl}* マウスの成長板軟骨では、細胞外のⅡ型コラーゲンの発現が著明に減少しているのみならず未成熟なコラーゲン線維形成や断裂が観察された。一方、細胞内のⅡ型プロコラーゲンの発現を検索した結果、ゴルジ体ではなく小胞体への異常蓄積を認めた。4. GFP-LC3 および mCherry-PC2 を過剰発現させた軟骨細胞を用いてライブセルイメージングを行った結果、小胞体内に発現するⅡ型プロコラーゲンの一部はオートファゴソームに取り込まれた後、リソソームへと運ばれることが明らかとなった。5. コラーゲンを正常に折りたたむシャペロンタンパク質 Hsp47 は、オートファゴソームに内包されたⅡ型プロコラーゲンとその局在が一致しなかったことから、オートファジー経路に取り込まれるⅡ型プロコラーゲンは折りたたみ不全タンパク質であることが確認された。6. 軟骨細胞でのオートファジー制御に関わる成長因子とその受容体を網羅的に検索した結果、Fgf18がFgfr4を介してオート



【図】本研究で明らかとなった、軟骨細胞におけるオートファジーの役割。生後の軟骨細胞では、コラーゲン分泌の増加に伴って折りたたみ不全のⅡ型プロコラーゲンが増加する。これらを分解するために、Fgf18はFgfr4とJNK経路を介してオートファジーを活性化し、不良タンパク質をリソソームへと運搬し分解する。

ファゴソームの形成を増加させることが明らかとなった。7. Fgf18遺伝子ヘテロ欠損マウス (*Fgf18^{+/-}* マウス) お

よびFgfr4遺伝子欠損マウス (*Fgfr4^{-/-}* マウス) より採取した軟骨細胞では、野生型マウス由来軟骨細胞に比較してⅡ型コラーゲンの分泌とオートファゴソーム形成の抑制が観察された。8. 組織学的検討の結果、*Fgfr4^{-/-}* マウスにおいて成長板軟骨細胞の細胞外Ⅱ型コラーゲンの発現低下と大腿骨の長さの短縮が認められた。9. *Fgf18^{+/-}* マウスおよび*Fgfr4^{-/-}* マウスで見られたⅡ型コラーゲン分泌の減少と骨成長不全は、オートファジーを活性化させる Tat-beclin-1 ペプチド投与により野生型と同程度まで回復した。10. Fgf18はJNK1/2経路の活性化を介して、オートファジーに重要なVPS34とbeclin-1の複合体形成を促進した。

■結論

Fgf18/Fgfr4/JNK経路により誘導される軟骨細胞のオートファジーは、小胞体に存在する折りたたみ不全のⅡ型プロコラーゲンの分解を促進することにより、生後の骨成長を制御していることが明らかとなった(図参照)。

■コメント

Fgfシグナルがオートファジーを介してⅡ型コラーゲンの質を制御することを示した興味深い論文である。骨成長とオートファジーの関連性が臨床的にも証明されれば、オートファジーを標的とした治療薬の開発も期待できる。しかし、本研究で用いられた *Atg7* 遺伝子欠損マウスの骨格の表現型がそれほど重篤でないことから、他のオートファジー関連遺伝子についての検討も行う必要がある。

大阪大学大学院歯学研究科生化学教室 波多 賢二

Keywords 軟骨細胞, Ⅱ型コラーゲン, Atg7, Fgf18, JNK経路

本文目次

男性の骨細胞における，アンドロゲンのスクレロスチン産生調節への影響：基礎と臨床におけるエビデンス

Regulation of sclerostin production in human male osteocytes by androgens: experimental and clinical evidence

Di Nisio A, De Toni L, Speltra E, Rocca MS, Tagliavero G, Ferlin A, and Foresta C

Endocrinology 156 : 4534-4544, 2015

© 2015 by The Endocrine Society

■背景

アンドロゲンは骨を構成する細胞に発現するアンドロゲン受容体に直接作用し，骨量を正に調整する。スクレロスチンは骨細胞から分泌され，主に骨形成を抑制することで骨量を負に調節する糖化タンパクである。本研究の目的は，アンドロゲンが骨細胞におけるスクレロスチン産生に対してどのように影響するかを明らかにすることである。

■方法

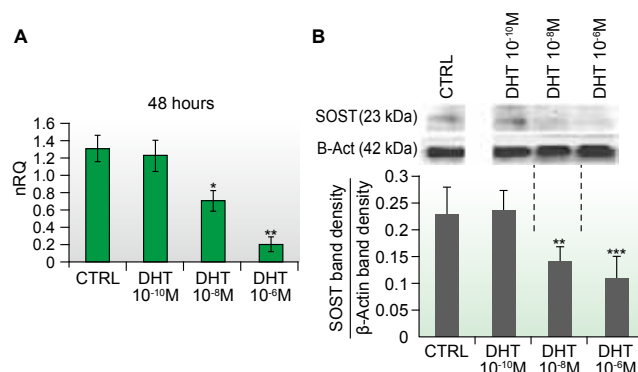
ヒト培養骨細胞を用いてジヒドロテストステロン (DHT) 刺激が，スクレロスチン産生や同遺伝子の発現へどのように影響するかを検討した。また20名の性腺機能低下を認める男性と，年齢を適合させた性腺機能正常男性とで血清スクレロスチン濃度を比較した。

■結果

DHTは培養骨細胞において，スクレロスチン遺伝子の発現とスクレロスチンタンパクの産生を時間，用量依存的に抑制した (図)。この結果がアンドロゲンの直接作用であることを証明するために，アンドロゲン受容体へのアンドロゲンの結合を阻害するフルタミドやアンドロゲン受容体遺伝子に対する siRNA を前投与したところ，DHTのスクレロスチンに対する作用は消失した。また性腺機能低下を認める男性群では性腺機能正常男性群と比較し，血清スクレロスチン濃度がより高値であることが確認された (145.87 ± 50.83 pg/mL vs 84.02 ± 32.15 pg/mL; $P < 0.001$)。更に，性腺機能低下男性と性腺機能正常男性の両群で血清テストステロンとスクレロスチン濃度の有意な負の相関が認められた (それぞれ $R = -0.664$, $P = 0.007$ と $R = -0.447$, $P = 0.045$)。また段階的重回帰分析においても血清テストステロン濃度がスクレロスチン濃度の唯一の独立した予測因子であることが判明した。

■結論

基礎実験と臨床実験により，テストステロンが男性の骨細胞においてスクレロスチンの産生を調節している可能性が示された。本研究によって，骨粗鬆症の治療ターゲットとしてのスクレロスチンの重要性がより鮮明になった。



【図】原初培養骨細胞におけるジヒドロテストステロン(DHT)のスクレロスチン(SOST)遺伝子発現とタンパク産生への影響。原初培養骨細胞において，DHTは48時間後にスクレロスチン遺伝子の発現(A)とタンパク産生(B)を用量依存的に有意に抑制した。

■コメント

テストステロンが骨細胞において，アンドロゲン受容体を介してスクレロスチンの産生を抑制することで骨形成を促進している可能性を，細胞実験で初めて示した論文である。また男性性腺機能低下患者における血清スクレロスチン濃度の相対的な上昇を提示することで，基礎実験の結果が臨床実験でも裏付けされている。しかし，原著の考察にも記載されているが，これまでに，ヒトにテストステロンを投与しても血清スクレロスチン濃度に変化がなかったという報告や，アンドロゲン受容体の全身，もしくは骨細胞特異的ノックアウトマウスにおいて骨のスクレロスチン遺伝子発現にコントロールマウスとの差が無かったといった本稿の結果とは相反する報告が多々ある。よって，テストステロンのスクレロスチン産生調節に対しての影響を明確にするためには，今後の更なる検討が必要であると考えられる。成熟したオスのマウスに対し，高テストステロン血症を呈する程度のテストステロンの投与や，性腺除去などが骨でのスクレロスチン遺伝子発現と血中スクレロスチン濃度にどのような影響を及ぼすか検討してみると新たな知見が得られるかもしれない。

東京大学医学部附属病院 腎臓・内分泌内科 伊東 伸朗

抗HIV-1 ウイルス療法によって誘発される骨量減少におけるT細胞再構成の役割

Role of T-cell reconstitution in HIV-1 antiretroviral therapy-induced bone loss

Oforokun I, Titanji K, Vikulina T, Roser-Page S, Yamaguchi M, Zayzafoon M, Williams IR, and Weitzmann MN

Nature Communications 6 : 8282, 2015

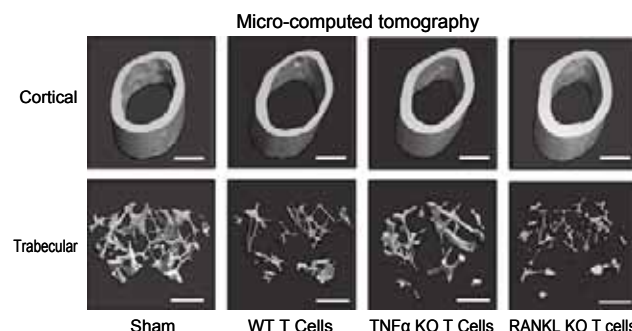
© 2015 Macmillan Publishers Limited. All Rights Reserved.

背景

HIV感染者の約15%が骨粗鬆症を発症し、骨折リスクが増加することが知られている。筆者らはHIV患者のB細胞におけるRANKL/OPG発現の上昇が一つの原因であることを見出している(Titanji K, et al, 2014, *PLOS Pathogens*)。しかし抗HIVウイルス療法(ART)を受けた患者においても、抗ウイルス薬の種類、投与方法にかかわらず、骨量の減少が認められる。本研究はT細胞欠損マウスに正常、または遺伝子改変を行ったT細胞を移植することでART後のT細胞再構成と骨量減少との関係を検討した。

方法と結果

1. T細胞欠損($\text{TCR } \beta^{-/-}$)マウスに CD^{3+} T細胞を移植すると血中のCTx, RANKL, $\text{TNF}\alpha$ 濃度が増加し、全身の骨量が減少した。 CD^{3+} T細胞移植マウスの大腿骨は皮質骨、海綿骨共に骨量が減少し、骨芽細胞の減少を認めた。2. CD^{3+} T細胞移植マウスと野生型マウスの免疫細胞におけるRANKL, $\text{TNF}\alpha$ 陽性細胞の割合をFACSを用いて比較したところ、 CD^{3+} T細胞移植マウスT細胞における $\text{TNF}\alpha$ 陽性細胞の割合は骨髓中の CD^{4+} Tおよび CD^{8+} T細胞でいずれも増加していたが、RANKL陽性細胞の割合は CD^{4+} T細胞でのみ増加した。3. CD^{3+} T細胞移植マウスのB細胞においてRANKL, $\text{TNF}\alpha$ 発現が増加したが、骨芽細胞、骨髄間質細胞にはそのような変化は見られず、T細胞の再構成は免疫細胞特異的に骨吸収因子産生を制御することが示唆された。4. CD^{3+} T細胞移植マウス的大腿骨、腰椎の骨量減少は移植する CD^{3+} T細胞の $\text{TNF}\alpha$ またはRANKLを欠損させることにより皮質骨では回避できたが、海綿骨では骨量は減少したままであった。5. $\text{TCR } \beta^{-/-}$ マウスに正常 CD^{3+} T細胞を移植すると血中RANKL濃度が増加したが、移植 CD^{3+} T細胞のRANKLを欠損させると非移植マウスと同程度まで低下したことから、移植T細胞がRANKLの重要な供給源であることが示された(図)。6. CD^{3+} T細胞移植マウスの血中CTx, OPG, RANKL濃度は増加したが、 $\text{TNF}\alpha$ 阻害薬投与により抑制され、皮質骨の多い大腿骨、脛骨において骨量が回復した。一方、海綿骨の多い腰椎では部分的な回復にとどまった。7. 再構成するT細胞数が骨量減少に与える影



【図】上段: 皮質骨, 下段: 海綿骨. T細胞欠損($\text{TCR } \beta^{-/-}$)マウスに正常T細胞を移植すると皮質骨, 海綿骨共に骨量が減少する(WT T cells). $\text{TNF}\alpha$ 欠損T細胞, あるいはRANKL欠損T細胞を移植したマウス($\text{TNF}\alpha$ KO T cells), (RANKL KO T cells)では皮質骨量が回復する. しかしながら海綿骨量は $\text{TNF}\alpha$ 欠損T細胞を移植したマウスで部分的に回復するにとどまり, RANKL欠損T細胞移植マウスでは正常T細胞移植マウスと同様に骨量が減少した.

響を $\text{TCR } \beta^{-/-}$ マウスにそれぞれ少数(1.0×10^3), 中等数(1.0×10^5), 多数(1.0×10^7)の CD^{3+} T細胞を移植し検討した結果, 少数のT細胞を移植したマウスでは骨量は減少しなかったが, 中等数では皮質骨, 海綿骨共に骨吸収が促進した。多数の場合では皮質骨が多い脛骨の骨量変化は認めなかったが, 海綿骨が多い腰椎に骨量減少を認めた。8. 血中 $\text{TNF}\alpha$ 濃度は少数, 中等数のT細胞を移植したマウスで増加しており, RANKL濃度は中等数, 多数のT細胞を移植したマウスで増加したことから海綿骨吸収はRANKL単独で誘導されるのに対し, 皮質骨吸収にはRANKLと $\text{TNF}\alpha$ の協調作用が必要であることが示唆された。

結論

T細胞再構成による骨吸収は移植したT細胞自身の $\text{TNF}\alpha$, RANKL産生の増加と, レシピエント側の免疫細胞の骨吸収因子産生の増加とにより協調的に誘導される。

コメント

本研究ではHIV, ARTの直接的な影響を除外したモデルを作製し, T細胞の再構成がレシピエントの骨量を減少させるメカニズムを解明した。しかし再構成過程のT細胞が他の免疫細胞, 特にレシピエント側のB細胞の骨吸収因子産生をどのように制御するかが検討されておらず, 今後の重要な課題であろう。

インディアナ大学医学部血液腫瘍内科学 奥井 達雄

Keywords CD^{3+} T細胞, RANKL, $\text{TNF}\alpha$, 免疫細胞, ゴレドロン酸

本文目次

IGFBP1 による肝臓と骨の内分泌連携が、破骨細胞分化と FGF21 誘導性骨破壊を促進する

A liver-bone endocrine relay by IGFBP1 promotes osteoclastogenesis and mediates FGF21-induced bone resorption

Wang X, Wei W, Krzeszinski JY, Wang Y, and Wan Y

Cell Metabolism 22 : 811-824, 2015

© 2015 Elsevier Inc. All rights reserved.

■背景

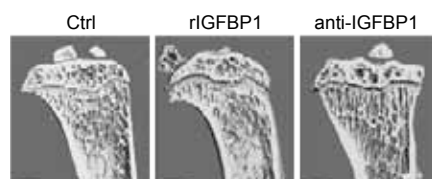
FGF21は、成長を促進する作用はなく、いわゆるホルモン様FGFサブグループに含まれ、糖・脂質代謝を制御する分子として注目を集めてきた。その有用性が治療標的として近年注目される一方で、FGF21が顕著な骨量の低下作用を有することが問題になっている。

■方法と結果

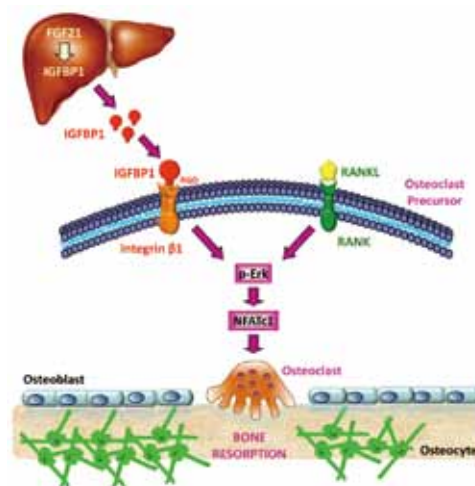
本研究では、肝臓でFGF21が高発現していることに着目し、肝臓から分泌される分子によって破骨細胞分化が促進されるという作業仮説を提唱した。その実証のため、肝臓細胞の培養液を破骨細胞の分化実験系に添加したところ、有意な破骨細胞分化の促進作用が観察された。FGF21強制発現 (FGF21-Tg) マウスから得られた肝臓細胞の培養液では、破骨細胞の分化促進作用はより強力になることも見出された。さらにFGF21の下流分子として、IGFBP1が強力に肝臓に発現し、FGF21-Tgマウスでは、より高い発現量があることが見出された。IGFBP1の添加は、破骨細胞分化を顕著に促進させ、肝臓細胞の培養液による破骨細胞の分化促進効果もIGFBP1の中和抗体でキャンセルされることから、IGFBP1が破骨細胞分化の促進分子である可能性が示唆された。一方、IGFBP1は骨芽細胞の分化には全く影響を与えなかった。

生体レベルでIGFBP1を投与した場合、骨量の著明な低下と骨破壊の促進が観察され、IGFBP1中和抗体の投与は、骨量を増加させた (図1)。また、骨粗鬆症モデルである卵巣摘出 (OVX) マウスでは、血清中のIGFBP1が顕著に上昇しており、IGFBP1中和抗体の投与により、骨量の低下が改善された。同様に、FGF21-Tgマウスにおける骨量の減少もIGFBP1中和抗体によって有意に抑制することができた。

興味深いことに、IGFBP1の破骨細胞への作用点として、integrin $\beta 1$ との結合の重要性が、*in vitro* と *vivo* の実験から見出されている。このシグナル経路が活性化させることで、Erkのリン酸化から、最終的にはNFATc1の活性化に至る破骨細胞の分化促進のシグナリングモデルが提唱された (図2)。



【図1】 リコンビナントIGFBP1と中和抗体の投与によるマイクロCT画像 (スケールバー、1mm)



【図2】 FGF21-IGFBP1を介した破骨細胞の分化促進

■結論

以上の結果から、これまで不明であったFGF21誘導性骨破壊が、IGFBP1の産生と破骨細胞分化の促進によって明らかになり、肝臓と骨の間に連関システムが存在する可能性が示唆された。

■コメント

FGF21は当初、肝でクローニングされたが、脂肪や筋肉でも発現が認められ、現在では脾臓でもその発現が確認されている。生体におけるFGF21の発現調節のメカニズムはいまだ不明な点が多く、骨疾患においてもその発現制御が解明されることに期待がかかる。FGF21の骨組織におけるネガティブな作用が強調される一方で、糖・脂質代謝系の優れた制御分子であることもまた事実であり、今後、多彩な作用をどのように有効に利用していくかが課題である。

東京医科歯科大学分子情報伝達学 中島 友紀

TGF- β の過剰産生は骨転移に合併する筋力低下を誘発する

Excess TGF- β mediates muscle weakness associated with bone metastases in mice

Waning DL, Mohammad KS, Reiken S, Xie W, Andersson DC, John S, Chiechi A, Wright LE, Umanskaya A, Niewolna M, Trivedi T, Charkhzarrin S, Khatiwada P, Wronska A, Haynes A, Benassi MS, Witzmann FA, Zhen G, Wang X, Cao X, Roodman GD, Marks AR, and Guise TA

Nature Medicine 21 : 1262-1271, 2015

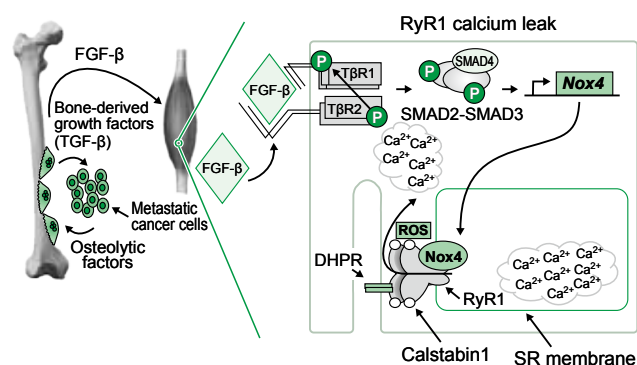
© 2015, Rights Managed by Nature Publishing Group

■背景

がん患者に見られる筋力低下の発症メカニズムは不明である。本研究は乳がん、肺がんなどの骨転移性腫瘍マウスモデルを用い、骨微小環境から放出される TGF- β により誘導されるライアノジン受容体1 (RyR1) 酸化と筋機能低下の関係を検討した。

■方法と結果

1. ヒト骨転移性乳がん細胞株 MDA-MB-231 の心腔内注射により作成した骨転移マウスは、正常マウスと比べ握力が減少し、長趾伸筋 (EDL), 短趾屈筋 (FDB) の筋力が低下していた。2. MDA-MB-231 骨転移マウスの FDB では筋小胞体 (SR) 上の RyR1 の酸化, ニトロシル化が亢進し, RyR1 安定化タンパクであるカルスタビンと RyR1 の結合が抑制されており, その結果, SR からカルシウム漏出が誘導され筋力が低下した。3. 乳がん骨転移患者, 肺がん骨転移患者の筋組織においても同様の RyR1 酸化による筋力低下を認めた。4. RyR1-カルスタビン結合安定剤 (S107) は MDA-MB-231 骨転移マウスの FDB における RyR1 の酸化, ニトロシル化を抑制し RyR1-カルスタビン結合を回復することで SR 上の RyR1 を介した Ca^{2+} の漏出を抑制した。その結果, 強縮時の FDB の内 Ca^{2+} 量が回復し, 骨転移マウスの握力が回復した。5. MDA-MB-231 を乳腺部に移植したマウス (非骨転移マウス) では FDB の筋力低下, RyR1 の酸化, ニトロシル化は誘導されないことから骨に大量に蓄積されている TGF- β の関与が考えられた。6. MDA-MB-231 骨転移マウスの血中 TGF- β 濃度はコントロールマウスと比べ増加し, 筋組織では Smad-3 のリン酸化が促進されていた。骨吸収阻害薬ゾレドロン酸, TGF- β 受容体阻害薬 (SD-208) 投与は筋組織における Smad-3 のリン酸化, RyR1 の酸化, ニトロシル化を抑制し RyR1-カルスタビン結合, 骨転移マウスの握力を回復した。7. MDA-MB-231 骨転移マウス, 乳がんおよび肺がん骨転移患者の筋組織において電子伝達系活性酸素誘導分子 Nox4 の発現ならびに RyR1-Nox4 への結合が増加していた。MDA-MB-231 骨転移マウス筋組織におけるタンパ



【図】骨転移性腫瘍の骨破壊によって骨基質中の TGF- β が遊離する。TGF- β は筋組織の TGF- β 受容体を介し Smad 経路を活性化する。これによって活性酸素産生酵素である Nox4 が誘導され SR 上の RyR1 が酸化される。RyR1 の酸化により SR から Ca^{2+} の漏出が誘導され筋機能が低下する。

ク質酸化を示唆するカルボニル濃度の上昇は, SD208 投与により減少した。8. マウス筋細胞 (C2C12) は TGF- β 処理によって Nox4 発現が増加し, SD208 処理によって抑制された。Nox4 をノックダウンした C2C12 細胞では TGF- β による活性酸素産生が低下していた。9. Nox4 阻害薬は MDA-MB-231 骨転移マウス筋組織における RyR1 の酸化, ニトロシル化を抑制し筋力を回復した。

■結論

腫瘍増大による骨破壊に伴って骨基質から放出された TGF- β は筋組織の TGF- β シグナルを活性化して Nox4 発現を促進し, RyR1 を酸化することにより SR からの Ca^{2+} 漏出が誘導され筋機能低下が惹起される (図)。

■コメント■

骨転移性腫瘍による骨破壊により骨基質から放出される TGF- β が筋力低下のメカニズムであることを示した興味深い研究である。しかしながら骨転移を有さない悪性腫瘍患者においても悪液質, 筋機能低下は認められるため, TGF- β 以外の因子, あるいは脂肪組織との関わりなどの検討も必要である。

インディアナ大学医学部血液腫瘍内科学 奥井 達雄

Keywords ライアノジン受容体, NADPHオキシダーゼ4 (Nox4), ゾレドロン酸

本文目次

マイオカインirisinは、皮質骨の量を増加させる

The myokine irisin increases cortical bone mass

Colaïanni G, Cuscito C, Mongelli T, Pignataro P, Buccoliero C, Liu P, Lu P, Sartini L, Di Comite M, Mori G, Di Benedetto A, Brunetti G, Yuen T, Sun L, Reseland JE, Colucci S, New MI, Zaidi M, Cinti S, and Grano M

Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA 112 : 12157-12162, 2015

© 2015 by The National Academy of Sciences of the USA. PNAS is not responsible for the accuracy of this translation.

■背景

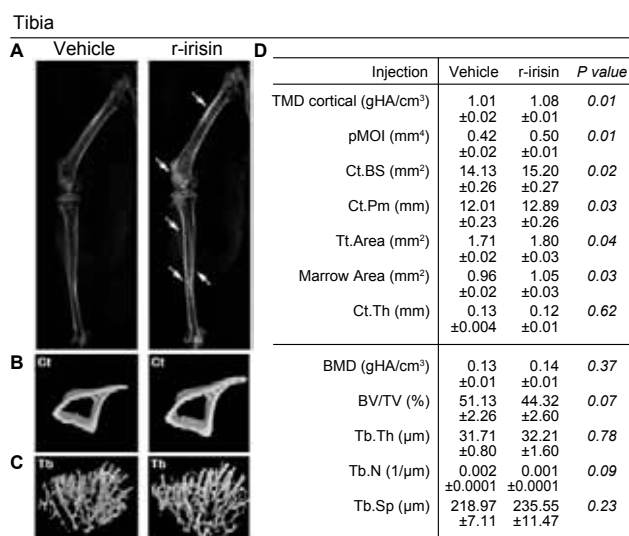
骨と筋肉は、生体の運動機能を司る主な構成組織であり、運動刺激の変化により、同時に強くなったり、弱くなったりすることが知られている。しかし、その連関システムの制御機構は未だに不明な点が多いのが現状である。Irisinは筋肉から分泌され、白色脂肪の*Ucp1*発現の亢進および、褐色脂肪への変換に関与するマイオカインである。その発現は、運動により誘導され、生体のエネルギー消費に関与することが知られているが、Irisinの骨組織への影響についてはこれまで不明であった。

■方法と結果

本研究では、Irisinの骨組織への機能を明らかにするため、リコンビナントIrisin (r-irisin) を、マウスに4週間、100 μ g/kgで投与した。注目すべきことは、この投与量の設定にある。これまでの報告では、500 μ g/kg/日を1週間投与することで解析が行われており、このような高用量(3,500 μ g/kg/week)の投与条件では、白色脂肪の*Ucp1*発現の亢進と褐色脂肪への変換が見出される。しかし、本研究で使用された低用量投与では、*Ucp1*発現の亢進と褐色脂肪は観察されていない。しかし、骨の構造解析の結果、r-irisinの低用量投与群では、コントロールマウスに比べ、皮質骨において、顕著な骨量、骨塩量の増加と骨の強度の上昇が見出された(図)。一方、海綿骨における骨構造に有意な変化は見出されなかった(図)。さらに、骨形態計測の結果、骨芽細胞の増加、骨形成のパラメーターの顕著な上昇が見出され、破骨細胞の数は、有意に抑制されていた。

r-irisinの低用量投与群から採取された骨髄では、骨芽細胞の分化を促進する分子*Atf4*の発現上昇が見出されたが、脂肪細胞への分化に関与する*Ppar γ* には変化が見られなかった。さらに、r-irisin (100ng/mL)を用いた骨髄細胞の*in vitro*解析から、r-irisinが骨髄細胞の骨芽細胞への分化や石灰化を促進することが確認された。この効果は、r-irisinによって、骨芽細胞分化を司る遺伝子発現の上昇から得られることが推測された。

Irisinは、膜タンパク質である*Fndc5*が切断されることにより、生体内に分泌される分子として同定された。



【図】リコンビナントirisinの低用量投与による皮質骨におけるアナボリック効果 (A)r-irisin投与マウスのX線画像、(B)皮質骨のマイクロCT画像、(C)海綿骨のマイクロCT画像、(D)骨構造解析と骨塩定量

本研究では、r-irisinを筋芽細胞株C2C12細胞に作用させると、*Fndc5*発現が上昇することから、オートクラインに作用することも示唆された。

■結論

以上の結果から、マイオカインであるIrisinが骨を強くすることが見出された。この骨の強化効果は、エネルギー代謝を介さず、骨への直接的なIrisinの作用により、その効果が発揮されていると考えられた。

■コメント■

r-irisinによる骨強化作用が示唆され、さらなる骨疾患モデルなどへの投与実験の検討から、新規治療法の可能性が大きくなることが期待される。一方、Irisinの生理的な骨への機能、すなわち、骨-筋コミュニケーションの実態は、依然として解明されておらず、通常および運動をした状態でのIrisinの発現と骨構造の変化や筋組織特異的なコンディショナルKOマウスを用いた解析などから、将来、解き明かされることを期待したい。

東京医科歯科大学分子情報伝達学 中島 友紀

肥満マウスの腸内微生物叢は骨ニッチを変化させ造血幹細胞分化を制御する

Microbiota from obese mice regulate hematopoietic stem cell differentiation by altering the bone niche

Luo Y, Chen GL, Hannemann N, Ipseiz N, Krönke G, Bäuerle T, Munos L, Wirtz S, Schett G, and Bozec A

Cell Metabolism 22 : 886-894, 2015

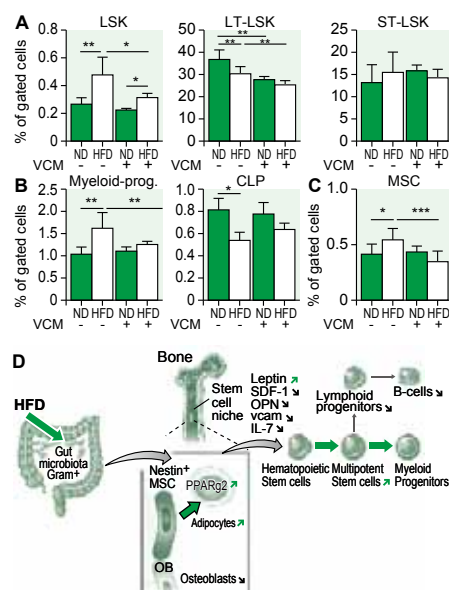
© 2015 Elsevier Inc. All rights reserved.

■背景・目的

肥満の炎症期には糖尿病や動脈硬化、関節炎や骨疾患のリスクが増大する。肥満が多臓器機能を障害するメカニズムの全容は明らかではないが、肥満による造血や免疫細胞の機能変化が原因の一つと推測されている。本研究では短期高脂肪食摂取 (HFD) による肥満モデルを用い、肥満による骨髄での造血幹細胞 (HSC) 分化への影響や免疫細胞の特性の変化を解析した。

■方法・結果

1. 通常食 (ND) に比べ、HFD 飼育 2 週間で HSC/造血前駆細胞分画である Lin^- , Sca^+ , c-Kit^+ (LSK) 分画が増加した。LSK の sub population 解析では、Short Term LSK (ST-LSK) は変化が無く、Long Term LSK (LT-LSK) は減少していたが、Multi Potent Progenitor (MPP) の増加により全 LSK は増加した。2. 増加した HSC の血液分化を検討した結果、HFD マウスの骨髄では骨髄系前駆細胞 (CMP) の増加を認めた。一方、リンパ球系共通前駆細胞 (CLP) は減少した。また CLP の減少に伴い、B 細胞分画が HFD マウスの骨髄で有意に減少した。3. HFD により長管骨の骨量、海面骨梁の数および骨芽細胞数が減少し、一方脂肪細胞数は増加し、また $\text{PPAR}\gamma 2$ が HFD マウスの CD45^- 間葉系幹細胞 (MSC) で増加した。4. HFD マウスの CD45^- MSC ではレプチンの発現増加と SDF-1 , OPN , vcam , ならびに IL-7 の発現低下を認めた。5. $\text{PPAR}\gamma$ 阻害薬 BADGE を HFD マウスに投与すると、HFD による骨量、海面骨梁数、骨の厚みおよび骨芽細胞数の減少、そして脂肪細胞数の増加が ND と同程度に改善した。また、LSK, LT-LSK, ST-LSK, MPP, CLP, B 細胞数も ND マウスと同程度に回復した。6. 次世代シーケンサーによる腸の微生物叢解析により、ND マウスではバクテロイデス門とフィルミクテス門が優位であったが、HFD マウスではこの 2 集団の割合は減少し、ウェルコミクロビウム門、放線菌、プロテオバクテリア門が増加していた。7. HFD マウスの微生物叢を移植したマウスでは造血前駆細胞分画の拡大と、CMP の増加、CLP の減少、骨芽細胞数の減少、ならびに脂肪細胞数の増加を認めた。8. HFD マウスにバンコマイ



【図】VCM 投与による HSC への影響を測定した。LSK, LT-LSK 分画は VCM 投与で減少がみられた。(B, C)HFD による CLP の減少や骨髄前駆細胞、MSC の増加は VCM 投与で ND と同程度に改善した。(D) 本研究のシェーマ。HFD による腸内微生物叢の変化は MSC の脂肪分化を促し、増加した脂肪細胞は HSC の骨髄系前駆細胞分化を促進し、CLP, B 細胞分化を抑制する。

シン (VCM) を投与し腸内グラム陽性菌を除去すると、バクテロイデス門、フィルミクテス門、放線菌の減少と、ウェルコミクロビウム門やプロテオバクテリア門の増加が誘導され、また、LSK, LT-LSK, CLP, MSC も減少した (図)。さらに骨量、骨芽細胞の減少、脂肪細胞数増加も改善した。

■結論

本研究により HFD によって生じる腸内微生物叢の変化が $\text{PPAR}\gamma 2$ の活性化による脂肪分化を誘導し、骨髄微小環境 (ニッチ) を変化させることで造血機能を制御することが示された。

■コメント■

腸内微生物叢の変化が MSC の分化を変化させるプロセスについては未だ明確ではないものの、腸内微生物叢の変化と骨・脂肪代謝や造血といった身体機能との関連について検討した興味深い研究である。今後、体内微生物叢やウイルスなどと生活習慣病、がん等の様々な疾患の病態との関連について研究が進められ、これらの疾患に対する新たな治療法が開発されることを期待したい。

インディアナ大学医学部血液腫瘍内科学 日浅 雅博

骨髄深部イメージングによって明らかにされた非分裂性造血幹細胞の類洞血管周囲への局在

Deep imaging of bone marrow shows non-dividing stem cells are mainly perisinusoidal

Acar M, Kocherlakota KS, Murphy MM, Peyer JG, Oguro H, Inra CN, Jaiyeola C, Zhao Z, Luby-Phelps K, and Morrison SJ

Nature 526 : 126-130, 2015

© 2015, Rights Managed by Nature Publishing Group

■背景

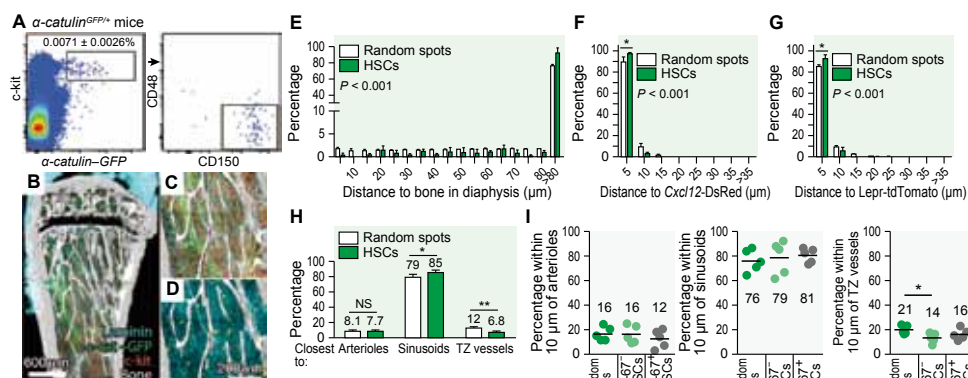
成体の骨髄に存在する造血幹細胞 (HSC) は、これまでの研究で *Cxcl12*, *Lepr* などを発現する類洞血管周囲間葉系細胞と血管内皮細胞が産生する因子によって維持されていることが明らかになってきた。一方、HSC の局在に関しては、骨表面や細動脈周囲にも存在する可能性が報告されており、結論が得られていなかった。

■方法と結果

著者らは遺伝子発現プロ

ファイリングによって *α-catulin* が HSC に限局して発現することを見出し、GFP ノックインマウスを作製した。このマウスでは全骨髄細胞のうち 0.02% のみが *α-catulin*-GFP⁺ で、HSC 以外の造血系細胞での発現は検出されなかった。また、CD150⁺CD48⁻Lineage⁻Sca-1⁺c-kit⁺ の HSC のうち約半数が *α-catulin*-GFP⁺ で、*α-catulin*-GFP⁺c-kit⁺ 細胞はほとんどが CD150⁺CD48⁻ (図 A)、競合的骨髄再構築アッセイにおいて約 30% が長期の多分化再構築能を示したことなどから、*α-catulin*-GFP⁺c-kit⁺ 細胞は現在利用可能なマーカーで採取された HSC と同等の純度であると考えられた。

骨髄全体のイメージングによって HSC の局在を同定するため、Murray 透明化液を用いることで骨髄全体の共焦点顕微鏡による撮影が可能となり、骨髄の広い領域全体を 3 次元でデジタルに再構築することに成功した (図 B ~ D)。この方法で *α-catulin*-GFP⁺c-kit⁺ 細胞は骨幹端よりも骨幹部に、骨表面近傍よりも 80 μm 以上離れた領域に局在する割合が高かった (図 E)。また、これまで同定されてきたニッチ構成細胞との距離を解析すると、ほとんどの *α-catulin*-GFP⁺c-kit⁺ 細胞が *Cxcl12*-DsRed^{high} 細胞や *Lepr*⁺ 細胞から 5 μm 以内の領域に存在する一方 (図 F ~ G)、GFAP⁺ シュワン細胞の 10 μm 以内には 6.2% しか



【図】骨髄深部イメージングによる HSC の局在解析。(A) フローサイトメトリによる α -catulin^{GFP/+} マウス骨髄細胞の解析。(B) 骨髄深部イメージングによる α -catulin-GFP⁺c-kit⁺ 細胞の経骨髄における解析。(C) (B) の強拡大画像。(D) (C) において、 α -catulin-GFP⁺c-kit⁺ 以外の造血系細胞を消去した画像。 α -catulin-GFP⁺c-kit⁺ 細胞は視認性向上のため黄色の球体に置き換えられている。(E ~ G) α -catulin-GFP⁺c-kit⁺ 細胞とランダムスポット (造血系細胞の存在する領域全体にランダムに配置された点) からの最も近い骨表面 (E)、*Cxcl12*-DsRed^{high} 細胞 (F)、*Lepr*⁺ 細胞 (G) への距離。(H) α -catulin-GFP⁺c-kit⁺ 細胞とランダムスポットから最も近い血管の種類の比較。(I) 細動脈、類洞、Transition zone 毛細血管から 10 μm 以内に存在する Ki-67⁺ α -catulin-GFP⁺c-kit⁺ 細胞と Ki-67⁻ α -catulin-GFP⁺c-kit⁺ 細胞、ランダムスポットの割合。*P < 0.05; **P < 0.01; NS, not significant.

存在しなかった。さらに、*α-catulin*-GFP⁺c-kit⁺ 細胞は細動脈・Transition zone 毛細血管から 10 μm 以内にはそれぞれ 15%, 12% しか存在しなかったが、類洞から 10 μm 以内には 85% が観察された。*α-catulin*-GFP⁺c-kit⁺ 細胞に最も近い血管も、85% が類洞であった (図 H)。

また、*α-catulin*-GFP⁺c-kit⁺ 細胞のうち Ki-67⁺ と Ki-67⁻ の細胞を比較したところ、どちらも類洞の近傍に多く確認され、Ki-67⁺ では 81% の細胞が、Ki-67⁻ では 79% が類洞から 10 μm 以内の領域に存在し、細動脈や TZ 毛細血管の 10 μm 以内にはあまり存在していなかった (図 I)。

■結論

骨髄全体のイメージングから、静止期・分裂性のどちらの HSC も主に *Lepr*⁺*Cxcl12*^{high} 細胞によって構成される類洞血管周囲ニッチに存在することが示唆された。

■コメント

透明化技術を骨組織に駆使し、HSC の局在やニッチを決定する画期的な内容である。一方で、*α-catulin*-GFP⁺ 細胞は全ての HSC を標識するわけではなく、また、標識される細胞が LT-HSC のみでないことに注意されたい。

東京医科歯科大学分子情報伝達学 林 幹人, 中島 友紀

がん細胞由来のエキソソームに含まれるインテグリンががん転移の臓器指向性を決定する

Tumour exosome integrins determine organotropic metastasis

Hoshino A, Costa-Silva B, Shen T-L, Rodrigues G, Hashimoto A, Tesic Mark M, Molina H, Kohsaka S, Di Giannatale A, Ceder S, Singh S, Williams C, Soplop N, Uryu K, Pharmed L, King T, Bojmar L, Davies AE, Ararso Y, Zhang T, Zhang H, Hernandez J, Weiss JM, Dumont-Cole VD, Kramer K, Wexler LH, Narendran A, Schwartz GK, Healey JH, Sandstrom P, Jørgen Labori K, Kure EH, Grandgenett PM, Hollingsworth MA, de Sousa M, Kaur S, Jain M, Mallya K, Batra SK, Jarnagin WR, Brady MS, Fodstad O, Muller V, Pantel K, Minn AJ, Bissell MJ, Garcia BA, Kang Y, Rajasekhar VK, Ghajar CM, Matei I, Peinado H, Bromberg J, and Lyden D

Nature 527 : 329-335, 2015

© 2015, Rights Managed by Nature Publishing Group

背景

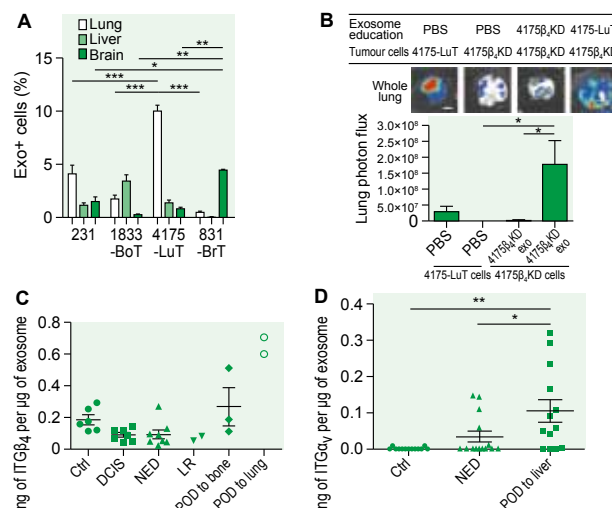
これまで、がん転移の臓器特異性に関する研究は主にがん細胞内での遺伝子発現やシグナル伝達経路にフォーカスされていたが、その分子機構は未だ明らかではなかった。

方法と結果

著者らは最近、がん細胞由来エキソソーム（直径30～100nm程度の膜小胞で、タンパク質、RNA、DNAなどが含まれ、細胞間で伝播される）が転移の過程に関わる知見を得ていたことから、エキソソームが臓器選択的に定着するかどうかを調べた。同一の乳がん細胞株(MDA-MB-231)から樹立された、肺、骨、脳にそれぞれ特異的な転移能をもつがん細胞（それぞれ4175-LuT, 1833-BoT, 831-BrT）由来のエキソソームの体内分布は、がん細胞の転移先臓器指向性と合致していた（図A）。

次に、様々ながん細胞由来エキソソームの定量的質量分析法によって6種類のインテグリン（ITG）を同定し、ITG発現プロファイルと組織指向性の相関を見出した。がん細胞株の種類によらず、ITG α_6 とITG β_4 、 β_1 が肺指向性を、ITG α_v とITG β_5 が肝臓指向性を有するエキソソームに検出された。エキソソームITGの臓器指向性における機能を調べると、ITG β_4 発現をノックダウンした4175-LuT (4175 β_4 KD) 細胞由来のエキソソームは肺への取り込みが低下し、逆にITG β_4 を強制発現した1833-BoT細胞由来のエキソソームは肺への取り込みが増加した。さらに、4175 β_4 KD細胞自体、肺転移能の低下をきたし、これは、通常の4175-LuT細胞由来エキソソーム投与によって回復することが示された（図B）。また、エキソソームに刺激された標的細胞内では、S100ファミリー分子の発現や、Srcタンパク質量、Srcリン酸化が上昇していた。

最後に、エキソソームITGの発現パターンががん転移先を予測できないか検証した。がんのタイプに関わらず、既に肺転移・肝転移のある患者血漿由来エキソソームにはそれぞれITG β_4 ・ITG α_v が高く検出されただけでなく、血液採取時点で転移のない乳がん患者のうち3年以内に肺転移を示した群では、肺転移の無い群に比べ、血中エキソソームで高いITG β_4 が検出された（図C）。また、膵臓がん患者で



【図】エキソソームに含まれるインテグリンによって制御されるがん転移。(A)各種ヒトがん細胞由来エキソソームを投与したマウスにおけるエキソソーム陽性(Exo⁺)細胞の割合。(B)4175-LuT細胞と4175 β_4 KD細胞の肺転移に対する、それぞれの細胞由来エキソソームの影響。ルシフェラーゼ発現によってイメージングし、定量化。(C)血液採取時点で転移のない血中エキソソームのITG β_4 量。それぞれ健康者(Ctrl)、非浸潤性乳がん患者(DCIS)、浸潤性乳がん患者で3年間再発のない群(NED)、3年以内に局所での再発があった群(LR)、3年以内に骨転移のあった群(POD to bone)、3年以内に肺転移のあった群(POD to lung)。(D)血液採取時点で転移のない血中エキソソームのITG α_v 量。それぞれ健康者(Ctrl)、3年間再発のない膵臓がん患者(NED)、3年以内に肝転移のあった膵臓がん患者(POD to liver)。* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$ 。

も3年以内に肝転移を起こした群では、そうでない患者やコントロール群と比較してエキソソームでのITG α_v 量が有意に高いことがわかった（図D）。

結論

がん細胞由来エキソソームの特定のITGによって前転移ニッチが形成されることで転移の臓器指向性が決定される。このITGをブロックすることで転移が抑制され、発現を調べることでがん患者での転移先臓器予測にも使われうる可能性が示唆された。

コメント

この研究により、長年謎とされてきたがん転移臓器指向性の分子機構の一端が解明された。また、骨指向性エキソソームは限局したITGのレパートリーしか示さず、ITG非依存的なメカニズムによる骨転移への関与が示唆されたことも興味深い。

東京医科歯科大学分子情報伝達学 林 幹人, 中島 友紀

Myostatin 欠損マウスは関節機能不全と身体機能低下をきたす

Joint dysfunction and functional decline in middle age myostatin null mice

Guo W, Miller AD, Pencina K, Wong S, Lee A, Yee M, Toraldo G, Jasuja R, and Bhasin S

Bone 83 : 141-148, 2016

© 2015 Elsevier Inc. All rights reserved.

■背景

近年myostatinは筋肉の成長を阻害する作用があるとして創薬のターゲットとして注目されている。Myostatinの抑制により筋体積が増えると報告している研究は数多くあり、加齢や慢性疾患に伴うsarcopeniaに対する有力な治療薬に繋がることが期待されている。本研究では身体機能と足関節周囲組織について若年(3~6ヵ月齢)と中年(12~15ヵ月齢)のmyostatin欠損マウスを用いて解析した。

■方法

トレッドミル耐性はExer3/6 Animal treadmill (Columbus Instrument)にて測定された。マウスを10m/minの速度で3度の傾斜で4分間走行し4分おきに2m/minずつ速度を増加させ電気ショックでも走行不可になるまで測定した。マウス足関節の角度は足背部と脛骨の角度を分度器で計測した。組織学的評価はマウスの後足部をパラフィン切片にしてヘマトキシリン・エオジン染色で評価した。採血は頸の静脈から採取して生化学的検査、サイトカイン測定を実施した。アキレス腱の骨への付着部を切除しTRIzolで回収しmRNAを抽出しqPCRを実施した。

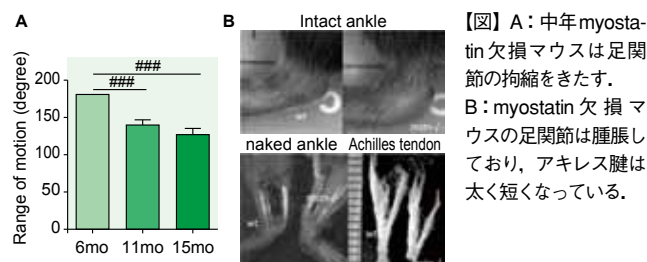
■結果

Myostatin欠損マウスはwild typeマウスと比較して筋体積が大きく、トレッドミル負荷試験では疲れやすいことが判明した。前腕の断面積や筋繊維サイズはmyostatin欠損マウスで大きかった。中年myostatin欠損マウスの足関節はwild typeマウスと比較して拘縮をきたしており腫脹していた(図A)。中年myostatin欠損マウスではアキレス腱が短く脆く(図B)、組織学的に骨、靭帯の構造が不規則で滑膜の肥厚と炎症性細胞の浸潤が見られた。

リン、ALKPは若年myostatin欠損マウス血清で上昇しており、cytokine arrayではosteoactivin, TIMP-2, osteopontinなどの骨吸収マーカーが上昇しており、破骨細胞マーカーであるCD40Lが上昇していた。靭帯付着部のmRNAは若年、中年共にBMP4, LRP5, LRP6, DKK1, TGFBR3, SIX1などが上昇していた。

■考察

本研究では中年myostatin欠損マウスの身体機能は低下



【図】A: 中年myostatin欠損マウスは足関節の拘縮をきたす。B: myostatin欠損マウスの足関節は腫脹しており、アキレス腱は太く短くなっている。

することが判明した。中年myostatin欠損マウスではアキレス腱付着部の骨形成異常、腱の腫脹と石灰化、滑膜の肥厚と炎症性細胞の浸潤などが見られ、これらの足関節の変化が身体機能低下に関連していることが予想された。

現在までmyostatinはchondrocyteの分化を抑制する一方でtenocyteの増殖と分化を促すことが知られており、関節周囲靭帯の石灰化と変性を抑制しているとされている。また、myostatinはBMP2やIGF1などの発現を抑制して、osteoblastの分化とbone marrow-derived mesenchymal stem cellsの石灰化を低下させると言われている。本研究では、myostatin欠損マウスではWNT co-receptorであるLRP5/6やBMP4の発現が上昇しており、WNTとBMPシグナルの連鎖により骨化作用が増強することが示唆された。

■結論

Myostatin欠損マウスでは足関節周囲組織の変性と関節可動域制限をきたし身体機能の低下を招いた。myostatin欠損マウスでは靭帯骨移行部のpro-osteogenic遺伝子の発現が上昇しており、骨リモデリング関連のサイトカインや成長因子の血中濃度の上昇を呈していた。

■コメント

現代の高齢化社会において廃用症候群の一因をなすsarcopeniaや慢性疾患に伴う身体機能不全の治療のターゲットとしてmyostatinは注目されているが、本研究ではmyostatin欠損マウスの長期経過では足関節周囲靭帯骨化や脆弱化、そして関節変性などの表現型を呈することを示しており、myostatinの臨床応用にはさらなる検討が必要であることが示された。

東京大学大学院医学系研究科外科学専攻整形外科学 張 成虎

世界で最も飲まれている飲み物はなんといってもコーヒーであろう。ブレイクファーストの時は無論のこと、昼食、夕食の後、午後のくつろいだひととき、緊張した会議の合間などについ熱い香りの高いコーヒーが欲しくなる。また値段も手ごろである点もスターバックスのようなコーヒーチェーン店の世界展開を容易にする要因と思われる。さらにコーヒー豆は多くの地域、国で栽培されており、毎年、世界のコーヒー豆の収穫量は石油に次いで世界経済の動きを左右するといわれている。

コーヒーが発見されたのは9世紀で、エチオピアのヤギ飼いの少年カルディが、ある木に実る赤い実をヤギが食べると興奮して飛び跳ねることに気づいて修道僧に相談し、その後修道院の夜業で眠気覚ましに利用されるようになったのが始まりとされている(図)。コーヒーを初めてヨーロッパに紹介したのはドイツの医師 Leonhart Rauwolff で、1582年に彼はメソポタミアで薬草を探している際にコーヒーに遭遇し、「インクのように真っ黒だが、いろんな病気、特に胃腸の病気、に大変良く効く」と記しており、それ以降コーヒーは“Black Medicine”とも呼ばれるようになった。



<http://www.denbydalecoffee.co.uk/blog/coffee-knowledge/history-of-coffee>

さて本題である。医師はどの程度コーヒーを飲むのか、また医師の中でもどの科の医師が多くのコーヒーを飲むのかを調査した研究がある。調査が行われたのは2014年1月1日から12月31日、時間は朝6:15から夜8:15まで、場所はスイスの教育研修病院(病院内にカフェテリアは4つ、14ある自動販売機でのコーヒー購入はデータにしていない)、参加した医師は766名(男性425名、女性341名)、IDカードを使って電子支払いすると値段が45%割引きとなるので、スタッフがコーヒーを買った時間、回数、種類(レギュラー、カプチーノなど)、医師の専門科、年齢、性別、身分、などは全てコンピュータに自動的に記録される仕組みになっている。

結果を見てみるとなかなか興味深い。766名中644名(84%)の医師が2014年内に少なくとも1回はコーヒーを買っており、病院全体で年間70,722杯のコーヒーが買われ、最も多く売れたのは12月19日金曜日の371杯であった。コーヒーの種類別では午前中にはCafé crème、ランチの後は圧倒的にエスプレッソが買われたとのことである。また意外なことに男性医師は女性医師に比べて2倍以上Café crèmeを飲み、カプチーノを飲む回数には男女差がなかった。注目の科別では、整形外科医が最も多く年間一人当たり平均190回コーヒーを買い、続いて放射線科医(177回)、一般外科医(167回)、内科医(90回)、そして最もコーヒーを買う回数が少なかったのは麻酔科医(39回)であった。整形外科医が最もコーヒーを買う回数が多いのは手術のストレスによるものか、それともカフェテリアでつぶす時間が多くあるのかはこの調査からは不明である。放射線科医は暗い部屋でコンピュータに映るイメージを長時間見つめているのが苦痛なためと想像される。麻酔科医が最も回数が少ないのは手術場で忙しくて外に出てこれられないのか、あるいは手術場でコーヒーメーカーを使って自分でコーヒーを作って飲んでいるためかもしれない。また病院に出てくる前に家で朝食にたっぷりコーヒーを飲んできている可能性もある。

この調査でもう一つ面白いのは、コーヒー摂取量とポジションとが相関するという結果である。ジュニアレベルでは年間一人当たり96回コーヒーを買うが、シニアレベルでは141回と増加する。シニアになるほどストレスが高まるせいであろうか。またデパートメントのヘッドは117回とシニアレベルよりも低いが、1回当たりに買うコーヒーの数はシニアの1.5倍であった。これは若いスタッフにコーヒーをご馳走していることによると思われる。またデパートメントのヘッドは通常自分のオフィスにコーヒーメーカーを持っており、秘書さんが入れたてのフレッシュなコーヒーを出してくれるので、わざわざカフェテリアに買いに行かないということも考えられる。

この調査を行ったのはコーヒーチェーン店ではなく、オーストリアの大学病院のれっきとした麻酔科医である。このような研究ができるということは時間が十分にあることを示しており、麻酔科医がコーヒーをあまり飲まない理由は忙しいからではなさそうである。わが国でもコーヒーが好きな医師は多いが、どういう飲み方をしているのかコーヒーチェーン店と共同で調べてみるのも一興かもしれない。

インディアナ大学医学部血液腫瘍内科学教授 米田 俊之

Bone & Joint Research Update: PDF magazine

2016 年 4 月 20 日版

制作・発行

国際医学出版株式会社

IMP@imp-kokusaiigaku.com

<http://www.imp-kokusaiigaku.com/>

impepdf-bjru001

本文目次