

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士 (医学)	氏名	猫本 明紀
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1, 2 項該当		
論文題目			
Feasibility of administration of calcitonin gene-related peptide receptor antagonist on attenuation of pain and progression in osteoarthritis (カルシトニン遺伝子関連ペプチド受容体拮抗薬投与による変形性関節症の疼痛および進行抑制の可能性)			
論文審査担当者			
主査	教授	池上 浩司	印
審査委員	教授	酒井 規雄	
審査委員	准教授	茂久田 翔	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>変形性関節症 (Osteoarthritis:OA) は、軟骨や軟骨下骨等の関節組織が進行性に変性し、疼痛と機能障害をきたす疾患である。OA の明らかな危険因子としては加齢と肥満があり、その他の因子の関連は依然として未解明な点が多い。近年、神経ペプチドや VEGF といった成長因子などの因子が血管新生と神経伸長を促進することにより、痛みや関節組織の構造的破壊が生じ、その結果 OA が進行するという報告が散見されるようになった。神経ペプチドには substance P, カルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP), 血管作動性腸管ポリペプチド (VIP) などがあり、それらが侵害受容や血管新生のみならず、局所の骨代謝や炎症、細胞増殖も調節するといわれている。軟骨下骨での CGRP や VIP の発現を阻害することで軟骨下骨の骨硬化が抑制され、軟骨変性の進行が抑制されるという報告がある。また、軟骨下骨に CGRP 陽性神経線維が多く出現すると OA が進行するという報告や、軟骨下骨支配神経の多くに CGRP が発現しているという報告もある。これらのことから、著者らは CGRP を治療標的とすることが最も効果的であり、炎症と軟骨下骨代謝異常の抑制により OA 進行を抑制し、さらに鎮痛効果も期待できるという仮説を立てた。本研究の目的はこの仮説にもとづき、CGRP 受容体拮抗薬リメゲパントを OA モデルマウスに投与にし、その OA 進行抑制効果と鎮痛効果を検討することである。</p> <p>本研究では OA モデルとして、内側半月板不安定化手術 (Destabilization of the Medial Meniscus;DMM) により OA が誘発される「DMM マウス」と老化促進マウス「SAMP8 マウス」の 2 種類が採用された。動物は C57BL/6J マウス (10 週齢雄) が用いられ、DMM マウスでは DMM 手術後にリメゲパント (1.0 mg/kg/100 μL) または PBS (100 μL) が週 1 回腹腔内に投与され、術後 4, 8, 12 週後に micro CT による骨形態解析、各種組織学的評価、および疼痛評価が行われた。SAMP8 マウスでは、軟骨下骨硬化の前 (4 週齢) と後 (13 週齢) にリメゲパント (1.0 mg/kg/100 μL) または PBS (100 μL) を週 1 回腹腔内投与し、それぞれ 9 週齢と 23 週齢で DMM マウスと同様の評価が行われた。組織学的評価では、滑膜炎の度合いを滑膜炎スコアで、軟骨変性の度合いを Osteoarthritis Research Society International' s (OARSI) score で、軟骨下骨量を Nagira らの報告した Subchondral bone score (軟骨下骨の厚み, bone volume (BV)/tissue volume (TV) 比, 骨棘形成の 3 項目) で評価し、さらに、免疫組織化学染色を用いた MMP-13 や ADAMTS-5 などの軟骨基質分解酵素, X 型コラーゲン, CGRP の発現レベルの評価が行われた。また疼痛評価として、DMM マウスでは行動評価 (立ち上がり回数と総移動距離) と後根神経節 (DRG) における CGRP の発現解析の 2 つが、SAMP8 マウスでは DRG における CGRP の発現解析のみが行われた。これらに加えて、リメゲパント長期投与による副作用の評価として、骨粗鬆症の度合いを評価する大腿骨遠位部および第 3 腰椎椎体の骨密度 (BMD) 測定と、肝障害発生の状態を評価する血清中の肝細胞逸脱酵素 (AST, ALT) の測定が行われた。</p> <p>DMM マウスでは、リメゲパント投与により軟骨変性が術後 4, 8, 12 週において、滑膜炎と骨硬化が術後 12 週において有意に抑制された。免疫組織化学染色の結果、リメゲパント</p>			

投与により軟骨下骨髄腔内の CGRP の発現が術後 4 週において、MMP-13, ADAMTS-5, X 型コラーゲンの発現が術後 4, 8, 12 週において有意に減少することが明らかとなった。疼痛評価においてもリメゲパント投与による疼痛軽減を示す結果が得られた。行動評価の結果として、リメゲパント投与により総移動距離と起立回数が術後 12 週で有意に増加することが示された。さらに、リメゲパント投与により術後 8 週および 12 週で、DRG における CGRP の発現が有意に減少することが示された。

SAMP8 マウスでは、9 週齢においてリメゲパント投与による滑膜炎スコア、軟骨下骨量、骨硬化度の有意な減少がみられた一方、23 週齢ではリメゲパントの有意な効果はみられなかった。免疫組織化学染色の結果、9 週齢において MMP-13, ADAMTS-5 の発現がリメゲパント投与により有意に減少することが明らかとなった。疼痛評価の結果、リメゲパント投与により 9 週齢の DRG における CGRP の発現が有意に減少することが示された。

副作用の評価については、DMM マウスの術後 12 週、SAMP8 マウスの 23 週齢のいずれにおいても、リメゲパント投与による骨密度の減少、血清内 AST および ALT レベルの上昇は観察されなかった。

一連の実験から、CGRP 受容体拮抗薬リメゲパントの投与が、軟骨下骨硬化や滑膜炎を抑制し、軟骨変性も抑制し、さらに疼痛を軽減することが示された。また、SAMP8 マウスを用いた結果から、リメゲパントの投与は関節内の炎症を抑制することと軟骨下骨の硬化を抑制することで、OA 進行を抑制しうることを示唆された。一方、軟骨下骨硬化後にリメゲパントを投与しても、機械的ストレスによる軟骨変性の進行を抑制できないことから、軟骨下骨硬化後のリメゲパント投与は OA 進行を抑制できないことが示唆された。早期 OA に対するリメゲパントの投与が、OA 進行の抑制や OA 関連痛の軽減に重要であることが推察される。実臨床ではリメゲパントの連続投与が肝障害や骨粗鬆症を引き起こす副作用が懸念されているが、本研究の結果は OA 進行や OA 関連痛を抑制する投与量や投与頻度では副作用を回避できることを示唆している。

以上の結果から、リメゲパントの投与は、2 種類の OA モデルマウスにおいて OA 進行および疼痛を抑制することが示された。リメゲパントはすでに片頭痛の治療薬として実用されており、ドラッグリポジショニングによる新たな OA 治療薬となる可能性があり、本研究成果は高く評価できる。

よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士(医学)の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。