

Title	Imatinib mesylate inhibits osteoclastogenesis and joint destruction in rats with collagen-induced arthritis(CIA)
Author(s)	安藤, 涉
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/47499">https://hdl.handle.net/11094/47499</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	安藤 渉
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 20974 号
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科臓器制御医学専攻
学位論文名	Imatinib mesylate inhibits osteoclastogenesis and joint destruction in rats with collagen-induced arthritis (CIA). (Imatinib mesylate は破骨細胞形成を抑制しコラーゲン誘導関節炎 (CIA) ラットの関節破壊を抑制する)
論文審査委員	(主査) 教授 吉川 秀樹  (副査) 教授 吉崎 和幸 教授 菅本 一臣

### 論文内容の要旨

#### 〔 目 的 〕

関節リウマチは関節破壊を伴う慢性・進行性の炎症性疾患である。関節リウマチや炎症性関節炎動物モデルであるコラーゲン誘導関節炎ラット (CIA ラット) における骨びらん部では、破骨細胞が骨吸収に強く関わっている。Imatinib mesylate は *abl*, *c-kit*, *platelet-derived growth factor receptor* などの *tyrosine kinase* に特異的に結合しその作用を抑制する。実際に Imatinib mesylate は慢性骨髄性白血病に対し臨床で使用されているが、関節リウマチを合併した慢性骨髄性白血病患者に対する imatinib mesylate 投与中に関節リウマチ症状が軽減したとの報告がある。また、imatinib mesylate は破骨細胞の分化に重要な因子である *macrophage colony-stimulating factor (M-CSF)* の受容体である *c-fms* の *tyrosine kinase* を抑制する (Dewar AL, et al. *Blood* 105 : 3127-32 : 2005)。一方、我々は関節リウマチ滑膜細胞が骨破壊部で M-CSF を産生し前破骨細胞を誘導維持することで骨破壊の病態に関与することを見いだした (Tsuboi H, et al, *Arthritis Rheum*, 52 : 3819-28 : 2005)。そこで我々は imatinib mesylate の破骨細胞誘導抑制効果による関節リウマチ治療の可能性を考え、CIA ラット及び *in vitro* での破骨細胞誘導に対する imatinib mesylate の効果を検討した。

#### 〔 方法ならびに成績 〕

CIA ラットを作成し、肉眼的に足関節の腫脹を認める感作 14 日目より imatinib mesylate (50 or 150 mg/kg)、dexamethasone、あるいは vehicle を毎日経口投与した。1 週毎に *hind paw volume* を測定し 2 週後、4 週後に X 線学的評価、組織学的評価 (HE 染色、TRAP 染色) を行った。一方、*in vitro* において、ラット骨髄細胞より M-CSF を用いて前破骨細胞を維持・増殖し、Imatinib mesylate による抑制効果を細胞数計測及び WST-1 assay を用いて検討した。また、RANKL/M-CSF 破骨細胞誘導の実験系を用い、破骨細胞分化に対する imatinib mesylate の効果を TRAP 染色にて検討した。さらに、ハイドロキシアパタイトコーティングプレート上で破骨細胞分化を誘導後に imatinib mesylate を添加し、破骨細胞機能に対する imatinib mesylate の効果を吸収窩計測にて検討した。

感作 14 日目に認められた *hind paw volume* の増加は dexamethasone 投与により減少したが、imatinib mesylate

投与では 50 mg/kg、150 mg/kg とも減少を認めず、vehicle 投与と同程度であった。

X 線学的評価では imatinib mesylate 150 mg/kg 投与により、2 週後では足関節及び MTP 関節の関節破壊が抑制された。4 週後では MTP 関節では関節破壊は認めなかったが、足関節では関節破壊を認めた。imatinib mesylate 50 mg/kg 投与により、MTP 関節では 2 週及び 4 週後において関節破壊は軽度抑制されたが、足関節の関節破壊は抑制されなかった。dexamethasone 投与により関節破壊は足関節及び MTP 関節において 2 週後及び 4 週後において関節破壊はほぼ完全に抑制された。

組織学的には vehicle 投与により 2 週後において MTP 関節内に滑膜増殖と関節破壊を認めた。一方、imatinib mesylate 150 mg/kg 投与では vehicle 投与と同程度の滑膜増殖を認めるも骨びらん像は減少し関節破壊は抑制された。4 週後における骨びらん部先端の TRAP 陽性細胞数 ( $28.1 \pm 14.9$ ) も vehicle 投与 ( $77.0 \pm 24.9$ ) と比し優位に減少した ( $p=0.028$ )。Imatinib mesylate 50 mg/kg 投与では 2 週後において関節破壊は認めないものの 4 週では vehicle 投与と同程度の関節破壊を認め、骨びらん部先端の TRAP 陽性細胞数 ( $55.0 \pm 20.8$ ) は vehicle 投与と同程度 ( $p=0.245$ ) であった。Dexamethasone 投与では滑膜増殖及び関節破壊は認めなかった。

In vitro において imatinib mesylate は M-CSF による前破骨細胞の維持増殖を濃度依存的に抑制した。1  $\mu$  m、2  $\mu$  m imatinib mesylate を加え 2 日間培養により、非添加と比し細胞数はそれぞれ 61.2%、36.9% に減少した。WST-1 assay では、それぞれ 65.8%、19.5% に減少した。RANKL/M-CSF による破骨細胞形成についても imatinib mesylate は濃度依存的に抑制した。破骨細胞分化 5 日目において非添加では TRAP 陽性破骨細胞数は  $403.5 \pm 37.6$  cells/48 well であるのに対し、0.5  $\mu$  m、1  $\mu$  m imatinib mesylate 添加により、それぞれ  $146.3 \pm 75.1$  ( $p=0.009$ )、 $5.5 \pm 3.7$  ( $p < 0.001$ ) cells/48 well と有意に減少した。2  $\mu$  m imatinib mesylate 添加では破骨細胞を認めなかった。しかし、破骨細胞によるハイドロキシアパタイト吸収窩は 1  $\mu$  m imatinib mesylate 添加によっても非添加と比べ有意差を認めなかった。

#### [ 総括 ]

Imatinib mesylate 投与により炎症は抑制されないが破骨細胞数は減少し関節破壊は抑制された。in vitro でも前破骨細胞の維持増殖及び破骨細胞への分化が抑制された。Imatinib mesylate は M-CSF の機能抑制を介し破骨細胞数を減少させ関節破壊を抑制したと考えられる。Imatinib mesylate は関節リウマチに伴う関節破壊を抑制する新たな薬剤となる可能性がある。

#### 論文審査の結果の要旨

関節リウマチは難治性の炎症性自己免疫疾患であり、炎症に続発して生じる関節破壊に伴う ADL の低下が問題となる。これまで、関節リウマチ滑膜細胞が骨破壊部で M-CSF を産生し破骨細胞前駆細胞を誘導維持することで骨破壊の病態に関与することが明らかとしてきた。一方、近年すでに臨床使用されている imatinib mesylate が M-CSF の単核球維持を抑制し、M-CSF receptor である c-fms の tyrosine kinase を抑制すると報告された。これらの事実を踏まえ、本研究では imatinib mesylate の関節炎動物モデルにおける骨・関節破壊に対する抑制効果、及び培養細胞による破骨細胞前駆細胞の増殖及び破骨細胞誘導に対する抑制効果を明らかとした。既存の薬剤を用いて、関節リウマチによる骨・関節破壊に対して破骨細胞形成の抑制を介した治療の可能性を提示したという点で、本研究は学位に値すると考えられる。