

[PRESS RELEASE]

2010年5月20日
東京大学医学部附属病院

変形性関節症の原因分子 *HIF2A* の発見
—ROAD スタディによる from Bench to Bedside and Society 研究の成果—

変形性関節症は四肢や脊椎の関節軟骨が摩耗する病気で、高齢者の生活の質（QOL）を低下させ、健康寿命を短縮させる、いわゆるロコモティブシンドロームの代表的疾患です。これまでに、われわれは変形性関節症には、生理的な骨の成長に必須の現象であるはずの「軟骨内骨化」が関与していることを報告してきましたが、今回、整形外科・脊椎外科の川口浩准教授、斎藤琢助教授らはその主たる原因が hypoxia-inducible factor 2 α (*HIF2A*) というタンパク質であり、この分子が炎症などによる nuclear factor- κ B (*NF- κ B*) の活性化で誘導されることを発見しました（Nature Medicine 電子版にて日本時間5月24日午前2時発表）。この *HIF2A/NF- κ B* シグナルを治療標的とすることで、将来、変形性関節症の根本的治療法の確立に繋がる可能性があります。本研究は当院の整形外科・脊椎外科が推進する Research on Osteoarthritis Against Disability (ROAD) スタディの成果です。

【日 時】 2010年5月20日（木） 14時～15時

【発表者】

東京大学医学部附属病院 整形外科・脊椎外科 准教授 川口 浩
東京大学医学部附属病院 ティッシュ・エンジニアリング部 骨・軟骨再生医療講座
助教 斎藤 琢
東京大学大学院工学系研究科 バイオエンジニアリング専攻（医学系研究科兼任）／
東京大学医学部附属病院 ティッシュ・エンジニアリング部
教授 鄭 雄一
東京大学医学部附属病院 22世紀医療センター 臨床運動器医学講座
特任准教授 阿久根 徹
東京大学大学院医学系研究科 国際保健学専攻 国際生物医科学講座 人類遺伝学
准教授 馬淵 昭彦

【会 場】 東京大学医学部附属病院 中央診療棟2 大会議室（7階）

【研究の背景】

高齢者の生活の質（QOL）を低下させ健康寿命を短縮させる運動器疾患、いわゆるロコモティブシンドロームの治療法は、最近になって長足の進歩を遂げ、患者に多くの恩恵をもたらしています。たとえば、骨粗鬆症に対するビスフォスフォネート製剤や抗 RANKL 抗体、関節リウマチに対する生物製剤による抗サイトカイン療法の開発などがその代表です。

変形性関節症（osteoarthritis; OA）は四肢や脊椎の関節軟骨が摩耗して関節周囲に骨棘が出来る病気で、関節痛や手足の麻痺を引き起こします。ロコモティブシンドロームの代表的疾患で、骨粗鬆症や関節リウマチよりも多くの高齢者が罹患し、介護保険では要支援の原因疾患の第一位になっている病気で、国内の有病者数は 2000 万人以上と推計されています。しかしながら、その治療法は対症療法のみで根本的治療法が存在しません。これは、OA の研究が関節リウマチや骨粗鬆症の研究に比べて明らかに遅れていて、そのメカニズムが殆ど解明されておらず、治療標的がわかっていなかったためです。

また、従来の国内外の OA 研究や軟骨研究は、基礎研究や臨床研究のどちらかに限定したものであり、それらを効率よく有機的に結合した研究体制がありませんでした。東京大学医学部附属病院では整形外科・脊椎外科（中村耕三教授、川口浩准教授）が中心になって、2005 年に OA の「from Bench to Bedside and Society」研究体制である Research on Osteoarthritis Against Disability (ROAD) スタディを樹立しました。今回の発見は、この ROAD スタディの学際的研究の成果です。

【研究成果の概要】

体の中で骨が出来る現象は、骨格の発生や成長に必須です。体内の骨の殆どは、いったん軟骨ができた後、これが石灰化して骨に置き換わるという過程で作られます。骨の成長も、骨の中にある成長板という軟骨が変性・破壊されて骨に置き換わり続けることで起こります。これを「軟骨内骨化」といいます。軟骨内骨化は、本来は永久に軟骨のままであるはずの成人の関節軟骨では起こらない現象ですが、川口浩准教授のグループは、これまでに OA の発症に関節軟骨における「病的な軟骨内骨化」が関与していることを報告してきました（Kawaguchi H: *Mol Cell* 25:1, 2008; *J Bone Miner Res* 24:8, 2009）。

今回、この「病的な軟骨内骨化」過程の中心的役割を果たす分子として、hypoxia-inducible factor 2 α (HIF2A) とそれを誘導する NF- κ B シグナルを同定しました（Nature Medicine 電子版 日本時間 5 月 24 日発表）。力学的負荷の蓄積や加齢の結果、関節軟骨で炎症反応などの NF- κ B シグナルによって HIF2A が発現し、関節軟骨において軟骨内骨化が促されることが示されました（添付資料 図 1 参照）。

【今後の展望】

健康な組織が従来の形質を保てずに別の形質を獲得してしまう、いわゆる変性疾患はロコモティブシンドロームのみならず多くの老化関連疾患に多く見られ、高齢化社会の進行によって重大な社会問題となっています。中には上記の軟骨内骨化のように、本来は生理的に必要な現象がその病因となってしまう場合があります。これは自然の摂理を越えた人類の高齢化によって、本来は起こりえない環境からのストレスに対応するための生体の防御作用とも考えられます。その証

拠に、骨棘は四肢では関節を支えて防御する方向にできます。

このような病態においては、病気の根本的な治療が生理的に必要な機能をも抑制してしまう可能性があります。この問題を解決するためには、生理的には殆ど作用しない、あるいは生理的に作用するが他の分子の機能で代償可能である、病気の発生にとって重要な役割を果たす分子を見つける必要があります。その機能を無くしても生理的な発生や成長には殆ど影響はないが、病的な OA を誘発する条件下では軟骨内骨化を明らかに抑制する *HIF2A* / *NF-κB* シグナルは、OA の画期的な治療標的になる可能性があります。

分子ターゲティングという観点からは、細胞内転写因子である *HIF2A* よりも、細胞外因子である炎症性サイトカインなどの *NF-κB* シグナルの方が直接の治療標的となりやすいため、われわれは *HIF2A* / *NF-κB* シグナルを誘導する具体的な細胞外分子を探索しています。

【用語解説】

● Hypoxia-inducible factor 2α (*HIF2A*) : 低酸素誘導因子 (HIF) ファミリーは、細胞に対する酸素供給が不足状態に陥った際に誘導されてくるタンパク質であり、転写因子として機能する。細胞は酸素不足に陥ると生き延びることができないが、このタンパク質が誘導されると、種々の遺伝子の転写が亢進されて新たに血管網が形成されるため、組織への血流が増加し、低酸素状態を脱することができる。最初に見つかったメンバーである *HIF1A* は上記の機能が主であるが、*HIF2A* は酸素状態とは無関係に発現して他にも多彩な機能を持つとされている。

● Nuclear factor-kappa B (*NF-κB*) : 細胞核内で転写因子として働くタンパク質複合体。生体内に広く発現して、ストレスやサイトカインなどの刺激により活性化される。特に、炎症反応や免疫反応における細胞内シグナル分子として中心的役割を果たす。

● 骨棘 : 変形性関節症の関節の周囲に出来る棘状の骨。四肢では関節を支えて防御する方向に出来るため、症状として現れることは少ない。ただし脊椎ではたまたまその近くに神経 (脊髄) が走っているために麻痺の原因になることがある。

【補足説明】

1. 当院整形外科・脊椎外科の ROAD スタディと今回の成果

基礎的な分子生物学研究からマウスを用いた遺伝子改変研究で得られた知見を、患者を対象とする臨床研究、さらには大規模な住民コホートを対象とするゲノム・疫学研究で確認するという、いわゆる「from Bench to Bedside and Society」の研究体制が、疾患研究には不可欠です。そこで当院 整形外科・脊椎外科では、運動器疾患、特に OA を対象とした学際的研究体制である ROAD スタディに取り組んでいます。本研究の成果は、ROAD スタディの包括的な研究推進・協力体制からもたらされたものですが、以下に今回の成果に至る経緯を説明します。

齋藤琢助教、川口浩准教授と疾患生命工学センターの鄭雄一教授は、共同で軟骨内骨化の最初の現象である軟骨細胞の肥大分化を誘導する分子のスクリーニングを、肥大分化マーカーである 10 型コラーゲン遺伝子 (*COL10A1*) のプロモーターを用いて行ないました。軟骨で発現している 100 種類以上の転写因子に *COL10A1* のプロモーターを反応させたところ、これらの転写因子のうち *HIF2A* が最も強い転写活性を示しました。このことから、*HIF2A* が軟骨細胞の肥大分化を誘導

する因子として大きく関与していることがわかりました。また、培養軟骨細胞に *HIF2A* を過剰発現あるいは発現抑制したところ、*COL10A1* だけではなく、その後の主要な軟骨内骨化関連分子のすべての発現が、それぞれ増加、減少しました。そこで *HIF2A* ヘテロノックアウトマウスを作成し（ホモノックアウトマウスは胎児期に死亡）、その膝関節に力学的負荷をかけて OA を誘発したところ、対照の正常マウスに比べて OA の進行が著明に抑制され、軟骨内骨化関連分子の発現がすべて低下しました（添付資料 図 2 参照）。また、*HIF2A* はこれらのすべての軟骨内骨化関連分子のプロモーターの各応答配列に直接結合して転写を誘導することが示されました。続いて *HIF2A* のプロモーターを用いた上流分子のスクリーニングを行ったところ、*IL-1*、*TNF- α* などの炎症性サイトカインで活性化される *NF- κ B* が *HIF2A* を誘導することがわかりました。

続いて、深井厚大学院生、中川匠特任講師が、OA 患者の人口膝関節置換手術時に患者の同意の下に採取した手術摘出膝関節軟骨を用いて検討したところ、OA の進行に伴って *HIF2A* の発現が明らかに亢進していることがわかりました（添付資料 図 3 参照）。

最後に、当院 22 世紀医療センターの阿久根徹准教授、吉村典子准教授による ROAD スタディ住民コホートの臨床情報に基づいて、医学系研究科・人類遺伝学教室の馬淵昭彦准教授、徳永勝士教授がゲノム関連解析 (397 人の OA 患者 vs. 437 人の対照) を行ったところ、ヒト *HIF2A* 遺伝子上に OA の発症と有意に相関している遺伝子多型 (SNP) を発見しました。当院 整形外科・脊椎外科と疾患生命工学センターで軟骨細胞培養を用いたヒト *HIF2A* のプロモーター解析を行ったところ、この SNP は *NF- κ B* による *HIF2A* 誘導を介して OA に関与していることが示されました。

以上より、マウスのみならずヒトでも *HIF2A/NF- κ B* シグナルは複数の軟骨内骨化関連分子を転写誘導することで OA の発症を制御しており、強力な治療標的の候補であることが明らかとなりました。

2. これまでの ROAD スタディの研究成果

● 住民コホートを用いた OA 疫学研究：初回検診ベースラインデータを用いた膝 OA と腰椎 OA の有病率と危険因子の解析

1. Muraki S, et al. *Ann Rheum Dis* 68: 1401, 2009.
2. Muraki S, et al. *Osteoarthritis Cartilage* 17: 1137, 2009.
3. Muraki S, et al. *Arthritis Rheum* 61: 779, 2009.
4. Yoshimura N, et al. *Osteoporosis Int* 20: 999, 2009.
5. Yoshimura N, et al. *J Bone Miner Metab* 27: 620, 2009
6. Oka H, et al. *J Orthop Sci* 14: 687, 2009.
7. Yoshimura N, et al. *Int J Epidemiol* (in press).

● 分子生物学を用いた OA 治療標的分子の探索：マウス OA モデルの樹立とそれを用いた候補遺伝子の同定

1. Yamada T, et al. *Nature Med* 12: 665, 2006.
2. Kamekura S, et al. *Arthritis Rheum* 54: 2462, 2006.
3. Shimizu S, et al. *Arthritis Rheum* 56: 3358, 2007.
4. Yamakawa K, et al. *Arthritis Rheum* 58: 172, 2008.

5. Kawasaki Y, et al. *J Clin Invest* 118: 2506, 2008.
 6. Shinoda Y, et al. *J Biol Chem* 283: 24682, 2008.
 7. Higashikawa A, et al. *Arthritis Rheum* 60: 166, 2009.
 8. Hirata M, et al. *PLoS ONE* 4: e4543, 2009.
 9. Fukai A, et al. *Arthritis Rheum* 62: 826-836, 2010.
- 客観的・定量的な診断・評価基準の確立：レントゲン画像全自動定量化ソフト KOACAD の開発
1. Oka H, et al. *Osteoarthritis Cartilage* 16: 1300, 2008.

【発表雑誌】

Nature Medicine 電子版

※日本時間 2010 年 5 月 24 日午前 2 時(ロンドン時間 23 日午後 6 時) 掲載

Nature Medicine 雑誌版 2010 年 6 月号

論文タイトル「Transcriptional regulation of endochondral ossification by HIF-2 α during skeletal growth and osteoarthritis development」

【注意事項】

報道の解禁時間は日本時間 5 月 24 日(月) 午前 2 時 (ロンドン時間: 23 日(日) 午後 6 時) となります。

新聞掲載は 5 月 24 日朝刊以降解禁となりますのでご注意ください。

【参考 URL】

Nature Medicine ホームページ <http://www.nature.com/nm/index.html>

【学会発表予定】

第 83 回 日本整形外科学会学術総会 (平成 22 年 5 月 27 日~30 日 於: 東京国際フォーラム)

※30 日午前 8 時より教育研修講演にて発表予定。

《本件に関するお問合せ先》

東京大学医学部附属病院 整形外科・脊椎外科

准教授 川口 浩

電話: 03-3815-5411(代表) (内線: 30473 または 33376)

携帯電話: 090-3002-5156 E-mail: kawaguchi-ort@h.u-tokyo.ac.jp

《取材に関するお問合せ先》

東京大学医学部附属病院 パブリック・リレーションセンター(担当: 小岩井、渡部)

電話: 03-5800-9188(直通) E-mail: pr@adm.h.u-tokyo.ac.jp

【添付資料】



図1. HIF2A / NF-κB シグナルによる変形性関節症発症のメカニズム

力学的負荷の蓄積や加齢の結果、関節軟骨で炎症反応などのNF-κBシグナルによってHIF2Aが発現してきて、永久に軟骨であるはずの関節軟骨において軟骨内骨化が促される。滑膜や靭帯に接して血管の侵入が可能な関節辺縁では軟骨内骨化が完成して力学的要請に応じた骨棘が出来るが、関節の中央部では血管侵入が届かないために骨化することなく軟骨の変性・破壊だけで終わってしまう。

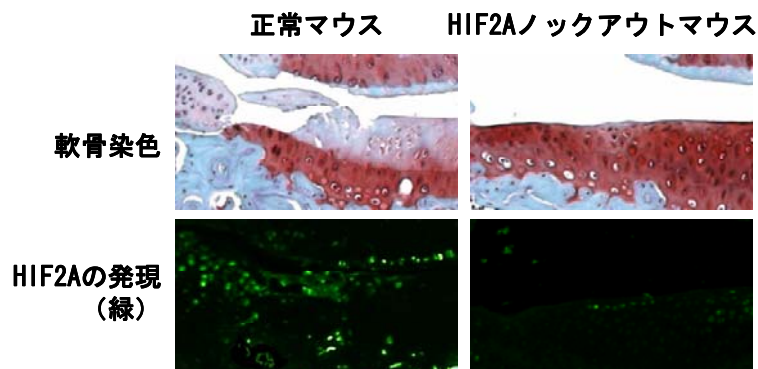


図2. マウス膝関節のOA負荷モデルにおける関節軟骨の変化
正常マウスでは明らかな軟骨（赤染色）の破壊が見られるが、HIF2Aヘテロノックアウトマウスでは破壊は抑制されている。

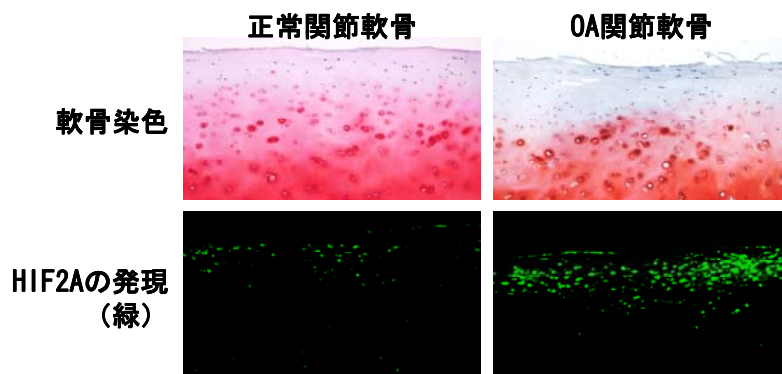


図3. 手術摘出ヒト膝関節軟骨における HIF2A の発現

正常関節軟骨と比べて OA 関節軟骨では HIF2A の発現（緑）が明らかに亢進している。