Mini Review

関節リウマチとオステオポンチン

湯本健司, 辻 邦和, 二藤 彰, 野田政樹

東京医科歯科大学難治疾患研究所分子薬理学

Osteopontin in rheumatoid arthritis

We review here regarding the observations that expression of osteopontin (OPN) was enhanced in the joints of rheumatoid arthritis patients. OPN in arthritic joints had not been clear previously. We published in 2002 that joint destruction in the arthritis model induced by a mixture of anti-type II collagen monoclonal antibodies and LPS (mAbs/LPS) injection was suppressed in the OPN-deficient mice. OPN is a phosphorylated glycoprotein interacts with integrins and CD44, promote the cell attachment and migration. OPN is highly expressed in bone, kidney and ovary and also produced by osteoclasts, endothelial cells, activated T cells and macrophages. One of the functions of OPN in the inflammatory condition is to bring inflammatory cells to the sites of injury and OPN is also a survival factor for the endothelial cells and enhances angiogenesis by promoting the vascular tube formation. Infiltration of inflammatory cells and angiogenesis in synovium in the arthritis model was suppressed in OPN-deficient mice. Additionally, apoptosis of chondrocytes in articular cartilage was reduced and destruction of articular cartilage was suppressed in the arthritis model in OPN-deficient mice. These data suggested that OPN might be a new target for the treatment of rheumatoid arthritis.

Rec.1/8/2003, Acc.4/8/2003, pp237-239

Kenji Yumoto, Kunikazu Tsuji, Akira Nifuji, Masaki Noda

Department of Molecular Pharmacology,

Tokyo Medical and Dental University

Key words osteopontin, rheumatoid arthritis, anti-type collagen antibody, joint destruction

関節リウマチ(RA)は、多発性関節炎を主徴とする慢性炎症疾患であり、その患者数は日本人口の約0.6%と推定されている。RAは自己免疫異常を背景とし、主病変部の関節では関節を包む滑膜に血管新生およびリンパ球やマクロファージなどの炎症系細胞の浸潤が認められ、滑膜の異常な増殖によるパンヌスが形成される。また、関節軟骨では細胞外基質の破壊および軟骨細胞のアポトーシスが認められる¹⁾。これらの病態形成にはTNF- α などの炎症性サイトカインが働いており、抗TNF- α 中和抗体は関節炎症状を顕著に改善する生物学的製剤としてデータが蓄積されている²⁾。しかし、RA患者の約半数は抗TNF- α 中和抗体による改善効果が認められないnon responderであり、RAは治療法が未だ確立されていない原因不明の難病である。

2000年に関節リウマチ患者の肥大滑膜にオステオポンチン(OPN)の発現が増加していることが報告された³⁾。

また、リウマチ患者にOPNに対する自己抗体が確認されている⁴⁾。しかし、関節炎におけるOPNの役割は明らかではないことから、われわれはOPNノックアウトマウス(OPN-KO)に抗型collagen抗体(抗C抗体)投与による関節炎(抗体誘導型関節炎)を作成し、OPN-KOマウスでは関節炎症状が抑制されることを報告した⁵⁾。

OPN構造、発現および機能

OPNは約300個のアミノ酸よりなる分泌性のリン酸化糖蛋白質で、RGDドメイン、ヘパリン結合ドメインおよびカルシウム結合ドメインを持ち、インテグリンおよびCD44と結合する。OPNの発現レベルは骨組織に高く認められる⁶⁾。骨の形態および機能は骨芽細胞による骨形成と破骨細胞による骨吸収により維持される。骨芽細胞の分化・増殖はBMP、TGF- β およびIGFなどの増殖因子により制御され、骨芽細胞分化には転写因子CBFA1が必須で

ある⁷⁾。CBFA1は型コラーゲンやオステオカルシンなどの骨芽細胞分化マーカー遺伝子の発現を制御し、OPNもまた骨芽細胞においてCBFA1によりその発現が制御される⁷⁾。OPNは骨基質に存在することにより骨芽細胞および破骨細胞の接着を促進する。OPNは破骨細胞の接着分子インテグリン α 3に結合し、Src, RhoA, PI3-Kinaseを活性化し、骨吸収を促進する⁸⁾。

また、OPNは血管内皮細胞、活性化T細胞およびマクロファージからも産生される。OPNはT cellsやマクロファージの正の走化性因子であり、炎症系細胞の病巣への浸潤に働くことが示唆されていることから⁹⁾、炎症を促進すると考えられる。一方、OPNはマクロファージからのNO産生を抑制することから抗炎症性分子としても働くことが示唆された¹⁰⁾。OPNが炎症においてこのような二面性を持つことから、関節炎においてOPNをノックアウトすることにより病態の形成にいかなる影響が起きるのかを検討した。

抗体誘導型関節炎におけるOPN-KOの影響

関節炎は、寺戸らの方法により抗C抗体およびLPS投与により誘導した。この関節炎は、まず抗C抗体の関節軟骨への結合により補体系が活性化し、LPSによって活性化された好中球やマクロファージが関節に浸潤することによって起きるRAモデルとされている¹¹⁾。抗C抗体/LPSを投与したOPN-KOマウスでは野生型と比べ、関節の腫脹、滑膜における血管新生および細胞浸潤の抑制が認められた。さらに、OPN-KOマウスでは関節軟骨細胞のアポトーシスが減少し、関節軟骨の破壊は抑制されていた。また、尿中のデオキシピリジノリン(骨吸収マーカー)レベルが野生型では抗体/LPSの投与により有意に増加しており、骨吸収の亢進が認められたのに対し、OPN-KOマウスでは骨吸収の亢進は認められなかった。これらの結果から、OPNは抗C抗体投与による関節炎の形成に促進的に働くことが明らかになった⁵⁾。

滑膜炎とOPN

関節炎を誘導した野生型マウスでは、滑膜にOPNの発現が増加する⁵⁾。型collagen投与により、自己抗体産生を誘導するcollagen induced arthritis (CIA)モデルにおいてもOPNの発現が滑膜において増加することが報告されている¹²⁾。OPNは炎症局所への細胞浸潤に働くことが示唆されており、また血管内皮細胞のsurvival因子であることや血管の管形成を促進することが報告されている¹³⁻¹⁴⁾。われわれの実験結果から、RA関節におけるOPNの発現亢進が、滑膜における炎症系細胞の浸潤および血管新生を促

進することが示唆された。また、OPNの正の走化性因子としての作用はトロニンやMMP-3, MMP-7によってOPNが切断されることにより、さらに増強することが報告されていることから¹⁵⁾、関節においてこれらのプロテアーゼによりOPNの働きが促進される可能性がある。

RA骨破壊とOPN

OPN-KOマウスでは関節炎による骨吸収の亢進が抑制された。RAにおける骨吸収の亢進、骨破壊は炎症性サイトカインなどによって活性化された破骨細胞により行われる。骨基質のOPNは破骨細胞の α 3インテグリンと結合することにより、破骨細胞の骨への接着を促進する。マウス卵巣摘除による骨粗鬆症モデルにおいてもOPN-KOマウスでは、骨吸収の亢進が抑制されることから¹⁶⁾、RAや骨粗鬆症などにおいて過剰に活性化された破骨細胞による急激な骨の減少には、OPNが働くことと推察される。

関節軟骨破壊とOPN

関節軟骨破壊には、滑膜だけでなく軟骨細胞自身から産生されるMMPやaggrecanaseなどのプロテアーゼが働くと考えられる。ヒト培養関節軟骨細胞にOPNが働くことMMP-1の発現が増加することが報告されていることから³⁾、滑膜炎における血管新生や炎症系細胞の浸潤だけでなく、関節軟骨破壊にもOPNが働くことが示唆された。今後、他のMMPやaggrecanaseの発現、活性制御へのOPNの関与が注目される。

今後の展望

抗体誘導型関節炎発症に、OPNが促進的に働くことが明らかにされたが、抗体誘導型関節炎は補体および好中球やマクロファージが中心的な役割を果たす関節炎であり、自己抗体の産生過程をスキップしたモデルである。しかし、OPNはT cellsからのIL-12の産生を増加し、IL-10の産生を減少させることにより、脳脊髄炎などのTh1型炎症疾患に促進的に働くことが報告されている¹⁷⁻¹⁹⁾。したがって、同じくTh1サイトカインが働くCIAモデルにおいてもOPN-KOマウスでは、Th1への誘導が抑制されることが期待され、CIAにおけるOPN-KOによる抑制効果に興味を持たれる。

OPN-KOマウスは、生理的な条件下においては正常に成長し生存可能であり、表面的には重症のphenotypeは認められないことから、OPNのブロックによる副作用は比較的少ないことが予想される。OPNの作用を特異的に抑制する中和抗体やアンタゴニストは副作用の少ない抗リウマチ薬として期待される。

文 献

- 1) Kim HA, Song YW: Apoptotic chondrocyte death in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 42: 1528-1537, 1999.
- 2) Elliott MJ, Maini RN, Feldmann M, Kalden JR, Antoni C, Smolen JS, Leeb B, Breedveld FC, Macfarlane JD, Bijl H, et al: Randomised double-blind comparison of chimeric monoclonal antibody to tumour necrosis factor alpha (cA2) versus placebo in rheumatoid arthritis. *Lancet*, 344: 1105-1110, 1994.
- 3) Petrow PK, Hummel KM, Schedel J, Franz JK, Klein CL, Muller-Ladner U, Kriegsmann J, Chang PL, Prince CW, Gay RE, Gay S: Expression of osteopontin messenger RNA and protein in rheumatoid arthritis: effects of osteopontin on the release of collagenase 1 from articular chondrocytes and synovial fibroblasts. *Arthritis Rheum*, 43: 1597-1605, 2000.
- 4) Sakata M, Tsuruha JI, Masuko-Hongo K, Nakamura H, Matsui T, Sudo A, Nishioka K, Kato T: Autoantibodies to osteopontin in patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*, 28: 1492-1495, 2001.
- 5) Yumoto K, Ishijima M, Rittling SR, Tsuji K, Tsuchiya Y, Kon S, Nifuji A, Uede T, Denhardt DT, Noda M: Osteopontin deficiency protects joints against destruction in anti-type II collagen antibody-induced arthritis in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 99: 4556-4561, 2002.
- 6) Denhardt DT, Noda M, O'Regan AW, Pavlin D, Berman JS: Osteopontin as a means to cope with environmental insults: regulation of inflammation, tissue remodeling, and cell survival. *J Clin Invest*, 107: 1055-1061, 2001.
- 7) Komori T, Yagi H, Nomura S, Yamaguchi A, Sasaki K, Deguchi K, Shimizu Y, Bronson RT, Gao Y-H, Inada M, Sato M, Okamoto R, Kitamura Y, Yoshiki S, Kishimoto T: Targeted Disruption of *Cbfa1* Results in a Complete Lack of Bone Formation owing to Maturational Arrest of Osteoblasts. *Cell*, 89: 755-764, 1997.
- 8) Denhardt DT, Giachelli CM, Rittling SR: ROLLE OF OSTEOPONTIN IN CELLULAR SIGNALING AND TOXICANT INJURY. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 41: 723-749, 2001.
- 9) Giachelli CM, Lombardi D, Johnson RJ, Murry CE, Almeida M: Evidence for a role of osteopontin in macrophage infiltration in response to pathological stimuli in vivo. *Am J Pathol*, 152: 353-358, 1998.
- 10) Guo H, Cai CQ, Schroeder RA, Kuo PC: Osteopontin is a negative feedback regulator of nitric oxide synthesis in murine macrophages. *J Immunol*, 166: 1079-1086, 2001.
- 11) Terato K, Harper DS, Griffiths MM, Hasty DL, Ye XJ, Cremer MA, Seyer JM: Collagen-induced arthritis in mice: synergistic effect of *E. coli* lipopolysaccharide bypasses epitope specificity in the induction of arthritis with monoclonal antibodies to type II collagen. *Autoimmunity*, 22: 137-147, 1995.
- 12) Ohshima S, Kobayashi H, Yamaguchi N, Nishioka K, Umeshita-Sasai M, Mima T, Nomura S, Kon S, Inobe M, Uede T, Saeki Y: Expression of osteopontin at sites of bone erosion in a murine experimental arthritis model of collagen-induced arthritis: possible involvement of osteopontin in bone destruction in arthritis. *Arthritis Rheum*, 46: 1094-1101, 2002.
- 13) Scatena M, Almeida M, Chaisson ML, Fausto N, Nicosia RF, Giachelli CM: NF-kappaB mediates alphavbeta 3 integrin-induced endothelial cell survival. *J Cell Biol*, 141: 1083-1093, 1998.
- 14) Takagi H, Suzuma K, Otani A, Oh H, Koyama S, Ohashi H, Watanabe D, Ojima T, Suganami E, Honda Y: Role of vitronectin receptor-type integrins and osteopontin in ischemia-induced retinal neovascularization. *Jpn J Ophthalmol*, 46: 270-278, 2002.
- 15) Agnihotri R, Crawford HC, Haro H, Matrisian LM, Havrda MC, Liaw L: Osteopontin, a novel substrate for matrix metalloproteinase-3 (stromelysin-1) and matrix metalloproteinase-7 (matrilysin). *J Biol Chem*, 276: 28261-28267, 2001.
- 16) Yoshitake H, Rittling SR, Denhardt DT, Noda M: Osteopontin-deficient mice are resistant to ovariectomy-induced bone resorption. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96: 8156-8160, 1999.
- 17) Ashkar S, Weber GF, Panoutsakopoulou V, Sanchirico ME, Jansson M, Zawaideh S, Rittling SR, Denhardt DT, Glimcher MJ, Cantor H: Eta-1 (osteopontin): an early component of type-1 (cell-mediated) immunity. *Science*, 287: 860-864, 2000.
- 18) Chabas D, Baranzini SE, Mitchell D, Bernard CC, Rittling SR, Denhardt DT, Sobel RA, Lock C, Karpuz M, Pedotti R, Heller R, Oksenberg JR, Steinman L: The influence of the proinflammatory cytokine, osteopontin, on autoimmune demyelinating disease. *Science*, 294: 1731-1735, 2001.
- 19) Jansson M, Panoutsakopoulou V, Baker J, Klein L, Cantor H: Cutting edge: Attenuated experimental autoimmune encephalomyelitis in eta-1/osteopontin-deficient mice. *J Immunol*, 168: 2096-2099, 2002.