

ステロイド療法下の血清可溶性 RANKL の変動は骨芽細胞での発現調節を反映する

金子 開知

東邦大学医学部内科学講座膠原病学分野 (大森)

背景：ステロイド (glucocorticoid) には多くの重篤な副作用が知られている。その1つとして骨粗鬆症による骨折は頻度が高く、quality of life の低下や合併症の誘発などステロイド療法の大きな課題となっている。ステロイド性骨粗鬆症の発症機序として骨芽細胞が発現する receptor activator of nuclear factor kappaB ligand (RANKL) と osteoprotegerin (OPG) の破骨細胞への影響が注目されている。RANKL, 可溶性 RANKL (soluble RANKL: sRANKL), OPG の働きを図1に示す。RANKL は、破骨細胞の前駆細胞表面に発現される受容体である RANK と結合することにより、成熟破骨細胞となり骨吸収が活発となる。一方、OPG は、RANK より高い親和性で RANKL に結合し RANKL を介する破骨細胞の活性化を抑制する、

デコイ受容体である。RANKL と OPG は、それぞれ骨組織局所において骨吸収を調節する重要な骨代謝調節因子である。RANKL には、骨芽細胞表面に出現する RANKL と血液中に循環している sRANKL が存在する。血清 sRANKL は、従来の報告では骨芽細胞膜上に発現した膜型 RANKL が、細胞膜上で酵素によって切断され、可溶性蛋白として遊離し血中に循環するか、活性型 T 細胞によって産生されると考えられている。しかしながら、血清に存在する sRANKL の存在意義についてはいまだ不明であり、特にステロイド性骨粗鬆症における血清 sRANKL についての報告はなされていない。

目的：本研究では、未治療の活動性の高い膠原病患者を対象に、血清 sRANKL, OPG を前向きに測定することに

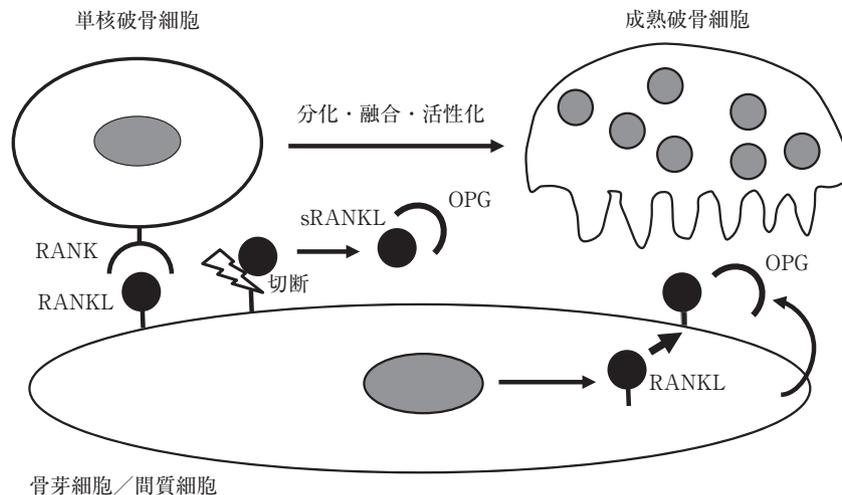


図1 RANKL, sRANKL, OPG の働きについて
 RANK (L) : receptor activator of nuclear factor κ B (ligand)
 sRANKL : soluble RANKL
 OPG : osteoprotegerin

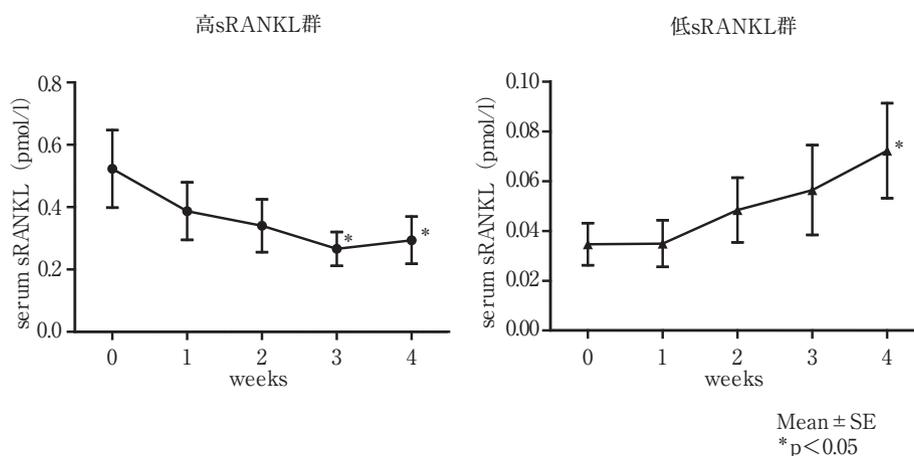


図2 高sRANKL群と低sRANKL群のステロイド療法後の血清sRANKLの変動
sRANKL : soluble receptor activator of nuclear factor κ B ligand

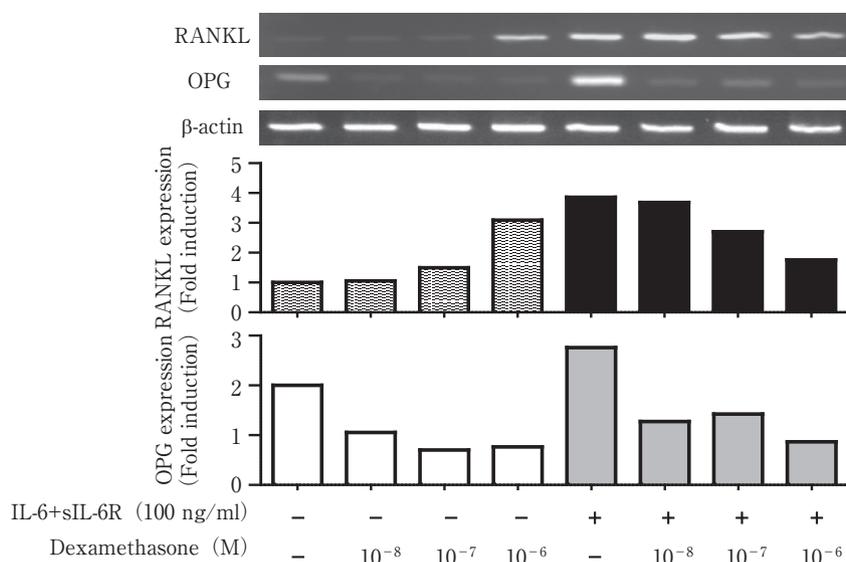


図3 ヒト正常骨芽細胞におけるRANKLおよびOPG mRNA発現とステロイドの影響

RANKL : receptor activator of nuclear factor κ B ligand, OPG : osteoprotegerin, IL-6 : interleukin-6, sIL-6R : soluble interleukin-6 receptor

より、ステロイド性骨粗鬆症の発症機序における血清sRANKL, OPGの意義を明らかにすることを目的とした。さらに骨芽細胞レベルにおけるステロイドによるRANKL, OPGの産生を検討した。

対象および方法 : 本研究は東邦大学医療センター大森病院および北里研究所倫理委員会の承認を受け、患者および健常対照者より文書同意を得て、東邦大学医療センター大森病院(患者)および北里研究所(健常者)において遂行された。未治療でプレドニゾロン30 mg/日以上の治療を開始し、同時にビスホスホネート製剤を併用した活動期膠原病患者60例(全身性エリテマトーデス21例, 血管炎症候群19例, 多発性筋炎/皮膚筋炎15例, 成人スティル病5

例, 平均55.2歳, 女性40例・閉経後23例)を対象に、ステロイド治療前, 治療1, 2, 3, 4週後に、血清sRANKL, OPGを経時的に測定した。また、年齢(± 5 歳), 性別, 閉経を一致させた健常者60例(平均55.2歳, 女性40例・閉経後23例)の血清sRANKL, OPGを治療前の膠原病患者と比較した。正常ヒト骨芽細胞を培養し、デキサメサゾン(10^{-6} ~ 10^{-8} M), interleukin-6 (IL-6) 100 ng/ml, 可溶性IL-6受容体100 ng/mlなどを添加しreverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR)にて、各RANKL, OPG mRNA発現を検討した。正常ヒト骨芽細胞の培養上清中のRANKL, OPGの蛋白濃度はenzyme linked immunosorbent assay (ELISA) キットを用いて測定した。

結果：治療前の膠原病患者群と健常者群の血清 sRANKL, OPG は、いずれも患者群が健常者群と比べ有意に増加していた。前向き臨床研究において、ステロイド療法後に血清 sRANKL は変化を認めなかった。しかし、治療前 sRANKL 値の分布は二峰性であり、血清 sRANKL 値が 0.16 pmol/l 以上を高 sRANKL 群とし、患者を 2 群に分けて解析した。高 sRANKL 群においてステロイド療法後有意に減少し、低 sRANKL 群ではステロイド療法後有意に増加した。一方、ステロイド療法後の血清 OPG 濃度は全例有意に減少した。また、低 sRANKL 群のステロイド治療後の骨密度は、高 sRANKL 群よりも有意に低下した (図 2)。正常ヒト骨芽細胞にデキサメサゾン単独を添加すると RANKL mRNA の発現は増加し、OPG mRNA の発現は減少した。正常ヒト骨芽細胞は、IL-6 と可溶性 IL-6 受容体の刺激により RANKL と OPG mRNA の発現はともに増加し、さらにデキサメサゾンを添加した際には RANKL と

OPG mRNA の発現はともに減少した (図 3)。細胞上清での RANKL の蛋白濃度は ELISA で検出できなかった。OPG の蛋白濃度は OPG mRNA の結果同様に、デキサメサゾンの添加で減少し、IL-6 刺激により増加した OPG はデキサメサゾンで減少した。

まとめ：OPG/RANKL/RANK システムは、ステロイド性骨粗鬆症の成因において極めて重要であり、中でも血清 sRANKL は臨床的に有用であることを示した。また、臨床的にステロイド治療前の血清 sRANKL 値により骨粗鬆症の進行が予測できる可能性があり、血清 sRANKL はステロイド性骨粗鬆症の有力なマーカーになりうることを示唆された。

本講演の要旨 (図 2 および図 3) は、*J Clin Endocrinol Metab* **97** : E1909-1917, 2012 に掲載された内容である。

金子開知先生 略歴



- 2005年3月 東邦大学医学部卒業
4月 東邦大学医療センター大橋病院初期研修
- 2007年4月 東邦大学医療センター大森病院膠原病科入局
東邦大学医学部大学院医学研究科博士課程（生体応答系膠原病内科学）入学
東京都立大塚病院内科出向
- 2008年4月 東邦大学医療センター大森病院膠原病科帰局
- 2012年3月 東邦大学医学部大学院医学研究科博士課程（生体応答系膠原病内科学）修了
4月 東邦大学医学部内科学講座膠原病学分野（大森）シニアレジデント
11月 医学博士取得（東邦大学甲第466号）
- 2013年4月 東邦大学医学部内科学講座膠原病学分野（大森）助教
現在に至る
- 受賞 2012年度（第11回）日本骨粗鬆症学会研究奨励賞，真菌症フォーラム第13回学術集会奨励賞（2012年），平成24年度東邦大学額田奨学金