

氏 名	渡 邊 厚
学位 (専攻分野の名称)	博 士 (食品栄養学)
学 位 記 番 号	乙 第 949 号
学位授与の日付	令和 2 年 4 月 20 日
学位論文題目	ラットにおける骨粗鬆症に対して食事中的カルシウム・リンバランスが及ぼす影響および既存骨粗鬆症治療薬による新たな治療方策
論文審査委員	主査 教 授・医学博士 中 江 大 教授・農学博士 上 原 万里子 准 教 授・博士 (農芸化学) 勝間田 真 一 博士 (医学) 安 齋 享 征*

論文内容の要旨

骨粗鬆症は、加齢や悪しき生活習慣に基づいて比較的高率に発生し、日本を含む先進諸国における少子高齢化の進展と相まって、世界的に懸念されている疾患である。したがって、予防や治療により骨粗鬆症を制御することは、喫緊の課題と考えられている。食習慣は生活習慣病である骨粗鬆症の発生・進展に深く関与するもので、それを制御することは骨粗鬆症そのものを制御することに繋がる。しかしながら、具体的にどのような食要因がどのように関与し、どうすれば骨粗鬆症の制御、特に予防に貢献できるかについては、未解決の部分が多い。一方、骨粗鬆症の治療に関しては各種の医薬品が開発されているが、現状では決定的なものが限られていて、また、副作用の懸念もあり、投与方法の工夫を含む新たな治療戦略の構築が望まれているところである。本研究は、これらの課題の解決に資する基礎的情報を得る目的で、動物実験による解析を行った。

食事中的リン濃度とカルシウム濃度の変動が骨粗鬆症に及ぼす影響

骨粗鬆症の発生と進展には、カルシウムとリンをはじめとするミネラルの体内バランスの変動が大きな影響要因となる。したがって、その調節臓器としての腎臓に障害が起きた場合には、病態が加速することが知られている。また、食事から摂取するミネラルのバランスも、病態の進行に影響を及ぼす重要な要因とされている。しかし、それらの詳細については、なお未解明な部分が多い。そこで本研究では、腎動脈部分結紮によるラット慢性腎臓病 (CKD) モデルに高リン食を適用して、食事中的カルシウムとリンの濃度が骨粗鬆症に及ぼす影響について解析した。

実験は、雄性 Slc:SD ラットを用い、8 及び 9 週齢時に無処置または左右腎動脈をそれぞれ 3/4 結紮する腎動脈部分結紮処置を行った後、カルシウム濃度に対するリン濃度の割合を

1/2 から 4 倍量まで変動させた食事を 10 週齢から 47 日間与えて解剖し、種々の解析を行った。

その結果、腎動脈部分結紮処置・リン 4 倍量群では、28 日目に著明な体重増加抑制がみられたため、動物福祉の観点から安楽殺を行った。また、無処置・リン 4 倍量群でも、21 日目から体重減少傾向がみられていた。腎動脈部分結紮処置群では血液学的、血液化学的および病理組織学的に CKD 様病態が観察され、特にリン 4 倍量群で顕著であった。また、無処置・リン 4 倍量群でも同様の変化が観察された。さらに、腎動脈部分結紮処置・リン 4 倍量群と無処置・リン 4 倍量群では、高リン血症・低カルシウム血症が誘導され、血中で線維芽細胞増殖因子 23 (FGF23) および副甲状腺ホルモンが高濃度であった。腎動脈部分結紮処置・リン 4 倍量群では、腎病変に加えて副甲状腺細胞の腫大や全身の血管における石灰化等の病変が観察された。さらに、骨においては骨髓腔の造血細胞減少・間葉系細胞の増殖・骨芽細胞/破骨細胞の増生・類骨領域の増加などが観察され、これらは骨粗鬆症またはそれに進展し得る所見であった。

以上より、腎動脈部分結紮処置と、リン濃度増強による食事中的カルシウムとリンの濃度のアンバランス化は、ラットにおいて、比較的短期間に CKD を伴う骨粗鬆症様病変を誘発することが判明した。本研究の成果は、CKD 合併骨粗鬆症の動物モデルとして有効に機能する実験系を確立し、ヒトへの外挿を経て、当該疾患の病態と背景分子機構の解明や、悪しき食習慣などリスク要因・増悪因子の同定と分子機構に基づいた制御方策の策定に資するものである。

既存骨粗鬆症治療薬による新たな骨粗鬆症治療方策

骨粗鬆症治療薬であるテリパラチド (PTH(1-34)) は、骨形成を行うことで骨粗鬆症を治療することが出来る唯一の医薬品であるが、ラットを用いたがん原性試験で骨肉腫が発生したことから、生涯 1 回しか使用することが出来ない。しかし、テリパラチドのラットにおける発がん性については、投与頻度により表現型が異なり、週 1 回投与であれば無毒性量を設定することが可能である可能性が示されている。そこで本研究では、ラットを用いて、テリパラチドの投与頻度による骨形成作用の違いと、その骨粗鬆症治療における意義について解析した。

実験は、雄性 Cr1:CD(SD)ラットを用い、3 か月間、種々の用量のテリパラチドを週 1 回または連日皮下投与して解剖し、骨形成バイオマーカーであるオステオカルシン (OC) および骨吸収バイオマーカーである I 型コラーゲン架橋 N-テロペプチド (NTx) の血中レベルと骨密度 (BMD) の経時的変化を解析した。

その結果、週 1 回投与群において、NTx はいずれの用量でも影響が現れず、OC は用量依存性に増加し、72 時間をピークに次回投与 (1 週間後) までに正常値に戻った。BMD は、穏や

かな増加を示したが、用量による差を認めなかった。これらの結果から、この群では、骨形成と骨吸収の亢進が定常状態に至るものと推察された。一方、連日投与群において、NTxは用量依存性に増加し、OCは週1回投与と比べ著しく高値を示した。BMDは、週1回投与と比べ高値を示したが、用量による差を認めなかった。これらの結果から、この群の骨形成は、限界無く過剰に亢進しているものと推察された。

以上より、テリパラチドは、週1回投与条件において正常骨代謝型(定常型リモデリング)、連日投与条件において高代謝回転型(高代謝回転型リモデリング)の骨形成促進作用を示すことが判明した。高代謝回転型の骨形成促進状態では、骨折に繋がるリスクが高く、ラットがん原性試験で検出された発がんリスクについても懸念がある。一方、正常骨代謝型の骨形成促進状態では、骨吸収に大きな影響を示さない自然生理に近い骨形成が行われるため、過剰な骨吸収が起こりにくく、骨折リスクが低いと考えられる。また、破骨細胞を活性化することなく骨芽細胞を活性化することから、発がんリスクについても懸念が低まることが期待される。本研究の成果は、投与条件を工夫することにより、テリパラチドによる新しい、より安全で繰り返し実施できる骨粗鬆症治療方策の策定に資するものである。

本研究の成果は骨粗鬆症の予防と治療に資するものであり、したがって、研究目的は達成されたものとする。

審査報告概要

骨粗鬆症は、加齢や悪しき生活習慣に基づいて比較的高率に発生し、世界的に懸念されている疾患である。したがって、予防や治療により骨粗鬆症を制御することは、喫緊の課題と考えられている。食習慣の制御は骨粗鬆症そのものを制御することに繋がるが、具体的にどのような食要因がどのように関与し、どうすれば骨粗鬆症の制御、特に予防に貢献できるかについては、未解決の部分が大きい。一方、骨粗鬆症の治療に関しては各種の医薬品が開発されているが、現状では決定的なものが限られていて、また、副作用の懸念もあり、投与方法の工夫を含む新たな治療戦略の構築が望まれているところである。本研究は、これらの課題の解決に資する基礎的情報を得る目的で、動物実験による解析を行った。

食要因については、腎動脈部分結紮によるラット慢性腎臓病(CKD)モデルに高リン食を適用して、食事中的カルシウムとリンの濃度が骨粗鬆症に及ぼす影響について解析した。その結果、腎動脈部分結紮処置と、リン濃度増強による食事中的カルシウムとリンの濃度のアンバランス化は、ラットにおいて、比較的短期間にCKDを伴う骨粗鬆症様病変を誘発することが判明した。本研究の成果は、CKD合併骨粗鬆症の動物モデルとして有効に機能する実験

系を確立し、ヒトへの外挿を経て、当該疾患の病態と背景分子機構の解明や、悪しき食習慣などリスク要因・増悪因子の同定と分子機構に基づいた制御方策の策定に資するものである。

治療方策については、ラットを用いて、骨粗鬆症治療薬であるテリパラチド (PTH(1-34)) の投与頻度による骨形成作用の違いと、その骨粗鬆症治療における意義について解析した。その結果、テリパラチドは、連日投与条件において高代謝回転型（高代謝回転型リモデリング）の骨形成促進作用を示し、骨折に繋がるリスクが高く、発がんリスクについても懸念がある一方、週1回投与条件において正常骨代謝型（定常型リモデリング）の骨形成促進作用を示し、骨折リスクが低く、発がんリスクについても懸念が低まることが期待されると判明した。本研究の成果は、投与条件を工夫することにより、テリパラチドによる新しい、より安全で繰り返し実施できる骨粗鬆症治療方策の策定に資するものである。

以上のように、本研究の成果は骨粗鬆症の予防と治療に資するものであることから、審査委員一同は博士（食品栄養学）の学位を授与する価値があると判断した。