

氏名 桐 野 志 保

授与した学位 博士
専攻分野の名称 歯学

学位授与の番号 博 甲 第 2 9 7 9 号

学位授与の日付 平成 1 7 年 3 月 2 5 日

学位授与の要件 医歯学総合研究科機能再生・再建科学専攻(学位規則第4条第1項該当)

学位論文題名 Regulation of bone metabolism in immunosuppressant (FK506) - treated rats. (免疫抑制剤FK506投与骨粗鬆症ラットにおける骨動態の検討)

論文審査委員 教授 山本 敏男 教授 滝川 正春 教授 菅原 利夫

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

[緒言]

近年の臓器移植の普及，進歩にはめざましいものがあるが，その成果には，移植技術の進歩とともに免疫抑制剤が寄与するところが多い。移植臓器に対する拒絶反応防止のため，移植を受けた患者は免疫抑制剤の長期服用を余儀なくされる。しかし，免疫抑制剤には，主作用である免疫抑制作用以外に腎障害をはじめとした多くの副作用が報告されており，中でも臓器移植後に生じる骨粗鬆症は，移植患者のQOLを著しく低下させる临床上重大な問題である。現在にいたるまで，この臓器移植後に起こる骨粗鬆症の予防法は未確立のままであり，その原因のひとつとして免疫抑制剤の関与が指摘されているが，機序の詳細は不明である。FK506は，シクロスポリンAと並び臨床で多用される免疫抑制剤であり，シクロスポリンAよりも効力が強く，副作用が少ない，より有効な薬剤とされている。本研究では，このFK506をラットに単独投与することによって，FK506の骨への影響を明らかにすることを目的とした。また，骨粗鬆症の臨床現場においてその病態の把握，治療薬の選択，治療評価に日常的に用いられるようになってきた骨代謝マーカーを用い，骨動態を経時的に検討することに加え，骨吸収の亢進に関与する主要因子として血清中の副甲状腺ホルモン(PTH)，腫瘍壊死因子 α (TNF- α)，インターロイキン-6 (IL-6)についての検索を行った。

[材料と方法]

実験には，8週齢SD系雄性ラット12匹を用いた。実験群にはFK506 (1mg/kg/day)を，対照群には生理食塩水を5週間連日腹腔内投与した。投与開始時，開始後1，3，5週後の血清および尿を経時的に採取し，FK506最終投与後24時間以内にラットを屠殺し，大腿骨および脛骨を摘出した。

I. 骨重量測定および3次元骨梁構造解析

摘出した左側大腿骨および脛骨は，乾燥骨重量の測定に用いた。右側大腿骨は，micro-CT (MCT-CB100MF, Hitachi Medico Technology, Japan) による3次元骨梁構造解析を行い (MCT system software package; Hitachi Medico Technology, Japan)，骨密度 (BV/TV) と骨梁間隔 (Tb.S) を計測した。

II. 骨動態の経時的変化

血清中および尿中カルシウム濃度、骨代謝マーカーのうち骨形成マーカーとして血清オステオカルシンを、骨吸収マーカーとして尿中ピリジノリン (PYD) とデオキシピリジノリン (Dpd) の和を測定し、骨代謝の指標とした。尿中 PYD と Dpd の総和は、クレアチニン値による補正を行った。

III. 骨吸収促進因子の検索

骨吸収の亢進に関与する因子として、血清中の PTH, TNF- α , IL-6 をそれぞれ ELISA 法にて測定し、経時的に検討した。

IV. 統計学的方法

統計分析は、Student's *t*-test および Welch's *t*-test にて両群間を比較した。

[結果]

FK506 投与によって、5 週後の大腿骨重量は実験群では対照群の 88.7% に、脛骨重量は 91.4% に減少したが、体重で補正すると両群の間で有意な差は認められなかった。Micro-CT による大腿骨の 3 次元骨梁構造解析では、実験群では対照群と比較して骨量 (BV/TV) の有意な減少 (対照群: $69.24 \pm 1.69\%$, 実験群: $50.32 \pm 1.50\%$; $p < 0.001$) と、骨梁間隔 (Tb.S) の有意な増加 (対照群: $0.0343 \pm 0.0064\mu\text{m}$, 実験群: $0.0487 \pm 0.0015\mu\text{m}$; $p < 0.01$) が認められた。

FK506 の投与期間中、血清カルシウム濃度は両群ともほぼ一定で正常範囲内を維持した。一方、尿中カルシウム濃度は、実験群では対照群に比べ投与 1 週後より有意な上昇が認められた。骨代謝マーカーのうち血清オステオカルシン値は、実験群において対照群と比較し 1 週目に有意に増加したが、以後対照群と差は認められなかった。尿中 PYD と Dpd の総和は、投与期間中を通して実験群では対照群より有意な増加を示した。

骨吸収促進因子のうち血清中 PTH は、実験群では対照群と比較し 3 週目において有意に増加した。TNF- α , IL-6 は投与期間中、両群の間に有意な差は認められなかった。

[考察]

本研究により、FK506 を連続投与すると、臨床的に使用されている投与量でも FK506 単独でラットに骨粗鬆症が引き起こされることが確認された。骨形成および骨吸収両方の観点から経時的に骨動態を検討した結果、FK506 投与により骨吸収の亢進を伴ういわゆる高代謝回転型骨粗鬆症が引き起こされることが、投与後初期には骨吸収の亢進に伴い骨芽細胞の活性が上昇し骨形成も亢進するが、以後さらに骨吸収の亢進が継続し、投与開始 5 週後には大腿骨に骨粗鬆症が生じることが明らかになった。また、骨吸収の亢進が持続的に引き起こされた背景に、全身的要因の一因として PTH の関与が示唆された。

論文審査結果の要旨

腎臓、肝臓、心臓いずれの臓器移植後にも時として重篤な骨粗鬆症が認められ、移植患者のQOLを低下させる临床上重大な問題となっている。臓器移植後骨粗鬆症の原因のひとつに免疫抑制剤の関与が指摘されているが、現在にいたるまでその機序は不明のままであり、骨粗鬆症の予防法は未確立である。

本研究は、*in vivo*において、免疫抑制剤FK506のラットの骨に対する影響を明らかにするとともに、骨代謝マーカーによる骨動態の経時的検討ならびに骨吸収促進因子についての検索を行い、その病態を検討したものである。

FK506をラットに5週間連続投与した結果、投与5週後には対照群と比較してFK506投与群での大腿骨骨密度の有意な減少が認められ、FK506の投与によってラットに骨粗鬆症が引き起こされることが明らかになった。本研究でのFK506投与量は、ラットに臓器移植を施すにあたって効果的な濃度の範囲内である。FK506が本薬剤単独で、治療量で骨粗鬆症を引き起こす可能性が十分あることが示されたことは、大変興味深い。

また、その病態は、高代謝回転型骨粗鬆症であることが明らかになった。投与後初期には骨吸収の亢進に伴い骨形成も亢進するが、以後さらなる骨吸収の亢進が持続すると考えられ、骨吸収促進因子の検索からその背景にPTHが関与しているという新たな知見を得ることができた。

以上のことから、本研究は、FK506の及ぼす骨への作用、骨動態を明確にしたものであり、骨粗鬆症出現に関わる全身的要因の一因としてPTHの関与を示唆したものである。この結果は、FK506の臨床使用上、副作用の軽減につながる有用な結果であり、本申請論文は博士(歯学)の学位論文に値するものと認められた。