

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医学） 氏名 清水 智弘

学位論文題名

続発性骨粗鬆症の病態および治療に関する研究
(Studies on mechanisms and treatment of secondary osteoporosis)

【背景と目的】

続発性骨粗鬆症の原因は多彩であるが、代表疾患である関節リウマチ(RA)では、骨質異常により重篤な骨脆弱性が発生する。しかし非侵襲的な骨質検査法がなく、十分なデータも蓄積していない。そこで本研究ではまず RA モデルマウスを用いて RA による骨質異常と力学的特性の変化を調査し、実臨床における RA 患者の骨質劣化の詳細と骨の強度特性の変化や実際の骨折頻度との関連を調査した。

次に続発性骨粗鬆症の治療に関しては、当研究室がかねてから研究を続けている糖鎖受容体 Sialic acid-binding immunoglobulin-type lectins (Siglec)-15 をターゲットとした治療の有効性について検証した。Siglec-15 は、免疫受容体チロシン活性化モチーフ依存性共刺激シグナルを賦活化し、破骨細胞分化を制御する免疫グロブリン様受容体の一種である。RA とステロイド剤によって生じる続発性骨粗鬆症においても Siglec-15 が治療ターゲットとなりうるかどうかをノックアウトマウスで調査した。ステロイド性骨粗鬆症については、とくに治療法が確立されていない小児への治療応用に着目した。

骨折治癒における補助療法として、ヒト副甲状腺ホルモン製剤テリパラチド (PTH₁₋₃₄)の間欠的が、多くの動物実験で強力な骨修復促進効果をもつことが証明されており、実臨床においても有用性が確認されている。しかし、ワーファリンによる石灰化障害が存在する続発性骨粗鬆症の状態では、骨治癒を促進するかどうかは明らかではないため、ワーファリン使用下のテリパラチドによる骨折修復促進効果について調査した。

これら一連の研究は、続発性骨粗鬆症の病態解明や新規治療法開発の研究基盤を形成するための統合的な研究である。

【方法と結果】

・動物モデルにおける関節リウマチの骨脆弱性の変化

WT、及び卵巣摘出モデル、関節炎自然発症マウス(SKG マウス)の骨をマイクロ CT、組織切片、フーリエ変換型赤外分光法、X 線回折法で各パラメーターを測定し力学的特性との関連を調査した。SKG マウスでは関節炎により全身性骨粗鬆症が惹起され、さらに骨幹端における海綿骨と皮質骨の骨量減少と、石灰化度とコラーゲンの配向性の低下が惹起され力学的特性の低下を認めた。これにより RA は早期から関節炎により骨質異常を来し骨脆弱性を呈した。

・ヒト実臨床検体における関節リウマチの骨脆弱性の変化

ステロイド剤を長期慢性使用している RA 患者および年齢、性別等をマッチングさせた非 RA 患者から採取した骨生検サンプルを用いて、RA およびステロイド剤長期慢性使用による骨質への影響や骨の力学的特性の変化を調査した。ステロイド剤を長期使用している RA 患者では、骨吸収抑制剤の使用にも関わらず、骨微細構造の劣化や低骨代謝回転、石灰化度の低下などの骨質異常が存在し、骨の強度が低下していた。

・ *Siglec-15* による関節炎モデルの検証

WT, 及び *Siglec-15*^{-/-}マウスに対して AIA 関節炎モデルを作成し、経時的な関節腫脹の観察、マイクロ CT と組織学的検討を行った。*Siglec-15*^{-/-}マウスは WT マウスと同程度に関節が腫脹し、滑膜の増殖および関節破壊が誘発された。*Siglec-15*^{-/-}マウスの二次海綿骨では形態的に異常な破骨細胞が形成されるが、滑膜周囲や軟骨下骨に分化誘導された破骨細胞の形態は正常であった。一方、関節炎側脛骨骨幹端部の骨量減少は、*Siglec-15*^{-/-}マウスで有意に少なく、傍関節性骨粗鬆症に対し抵抗性を示した。

・ *Siglec-15* による小児ステロイド性骨粗鬆症モデルの検証

7 週齢雄の WT, 及び *Siglec-15*^{-/-}マウスに対してステロイドおよびアレンドロネート投与し、投与 2 週、8 週後のマイクロ CT 撮像、組織学的検討を行った後に力学的強度試験を行った。*Siglec-15*^{-/-}マウスは WT と同程度にステロイド投与により成長障害を来した。成長軟骨下の破骨細胞においては *Siglec-15*^{-/-}マウスではステロイド投与による変化は WT と変わらないもののアレンドロネート投与すると破骨細胞の産生が抑制され、成長軟骨の吸収障害を認めた。二次海綿骨領域ではステロイド投与による骨量減少は WT と *Siglec-15*^{-/-}マウス共に認めなかったが、骨幹部の皮質骨幅は WT で有意に減少したが、*Siglec-15*^{-/-}マウスでは減少が抑制され力学的強度が保たれた。

・ ワーファリン使用下のテリパラチドによる骨折修復促進効果

12 週齢の SD ラットに大腿骨骨切りモデルを作成し、PTH₁₋₃₄ 投与、ワーファリン併用、ビタミン K 併用群を作成し、血清オステオカルシン濃度と仮骨の形態計測および力学強度試験を行った。PTH₁₋₃₄ 投与によって仮骨密度は上昇し、力学的強度も増加した。PTH₁₋₃₄ 投与により、血清グラ化オステオカルシン濃度もコントロールの約 5 倍増加し、高いレベルが術後 6 週まで維持された。PTH₁₋₃₄ にワーファリンを併用すると、血清グラ化オステオカルシン濃度の増加効果は消失し、力学的強度増強作用も減弱した。ビタミン K 併用群では力学的強度の増強傾向はあったものの、有意な差はみられなかった。

【考察】

本研究の結果から、関節リウマチそのものにより早期から石灰化低下やコラーゲン配向性の低下が出現し骨脆弱性が惹起された。様々な要素の含む臨床検体においても微細構造の劣化や石灰化低下による骨質異常が同様に骨脆弱性を惹起したと考えられた。*Siglec-15* は II 型コラーゲンにより活性化される FcR γ シグナルと骨基質の両者の存在下では完全に代償されるため、関節炎に伴う関節内の骨病変には治療ターゲットとならないが、小児ステロイド骨粗鬆症に対しては成長障害を来さない画期的な治療ターゲットとなりうることを示唆された。PTH₁₋₃₄ の骨折治療においては低栄養やワーファリンなどの薬剤を服用している症例におけるは効果がない可能性が示唆された。

【結論】

関節リウマチは石灰化低下やコラーゲンの配向性の低下などの骨質異常が起こり骨脆弱性を惹起
Siglec-15 は関節リウマチの傍関節性骨粗鬆症と小児ステロイド性骨粗鬆症の治療ターゲットとして有用
PTH₁₋₃₄ の骨治癒効果はビタミン K 依存性グラ化オステオカルシンの充足が必要