

課題番号 64

骨アナボリック作用をもつMPMBPによる骨質維持について

[1] 組織

代表者：長岡 正博
 (奥羽大学歯学部)
 対応者：田中 耕三
 (東北大学加齢医学研究所)
 分担者：鈴木 恵子
 (昭和大学歯学部)

研究費：物件費 13 万円

[2] 研究経過

高齢者の骨折は寝たきり生活や認知症につながりやすいため、その後の ADL と QOL を著しく低下させる。糖尿病患者では非糖尿病患者に比較して有意に骨折リスクが高いことは『糖尿病診療ガイドライン』にも記載されている通り、糖尿病患者の骨折リスク上昇は今や広く認識されている。糖尿病治療の目標は、健康な人と変わらない QOL の維持と寿命の確保である。したがって糖尿病に合併する骨粗鬆症の病態を把握し、骨折リスク低減に対するアプローチを行うことは重要である。一般的に骨折しやすいさの指標である骨強度は骨密度と骨質の要因から構成されており、糖尿病における骨代謝異常は骨密度の減少よりも、骨質の劣化が重要と考えられている。糖尿病患者の骨折リスクは、骨密度を主体とした一般的な評価よりも 5 倍程度高いことが知られている。すなわち不適切な生活習慣に関連する骨質低下が糖尿病患者での易骨折性の主要因とされていることから、早期からの介入が必要と考えられる。

本研究で用いている MPMBP はビスホスホネートのひとつであり、P-C-P 基本骨格があらゆる確実な骨吸収抑制作用に加えて、側鎖が肝代謝を受けて生成するチオール基に由来する抗酸化作用をもつことを特徴とする化合物である。これまでの研究成果から、MPMBP は骨吸収抑制作用と骨形成促進作用に加えて、抗炎症作用を併せ持つことが示されている (論文発表 1,2)。

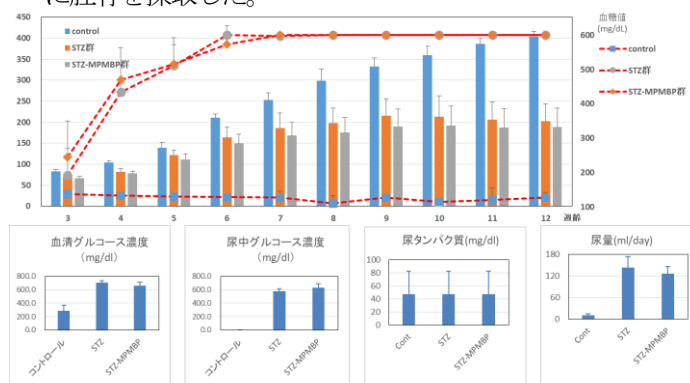
本研究計画では、ラットを用いて 2 種の骨粗鬆症モデル[①糖尿病 (STZ 誘発性) モデル、②腎障害 (アデニン摂取) モデル] を作製し、MPMBP の骨質維持への影響を第 3 世代ビスホスホネートであるゾレドロネートと比較して、骨代謝疾患治療薬としての MPMBP の有用性を評価する。

加齢研対応者とは主に email を使用してディスカッションを行い、凍結切片作製、顕微鏡観察・画像取得を行うほか、若齢 (2 か月齢) および老齢 (24 か月齢) マウス由来の線維芽細胞を培養後、CellROX または MitoSOX を指示薬として細胞内活性酸素 (ROS) またはミトコンドリア内スーパーオキシド (O₂⁻) を検討した。

[3] 成果

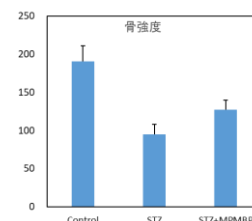
<糖尿病 (STZ 誘発性) モデルでの実験>

1. 生後 3 週齢 Wistar ラットにストレプトゾトシン (80mg/kg) を投与して高血糖ラット (STZ 群) を作製した。
2. 血糖値上昇を確認後、MPMBP (1.2mg/kg) を週 1 回投与し (STZ-MPMBP 群)、8 週後に脛骨を採取した。



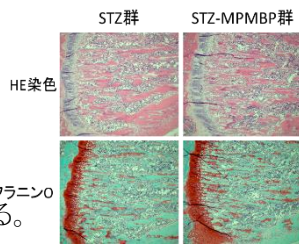
STZ 投与により血糖値の上昇を確認した。MPMBP 投与は STZ により誘発された糖尿病の病態には影響を及ぼさないことが確認できた。

3. 大腿骨を用いた骨強度の計測を行ったところ、MPMBP 投与することでの STZ で低下したこと強度が回復する傾向を示すことが確認できた。



4. 脛骨の脱灰パラフィン切片を TRAP 染色したところ、STZ-MPMBP 群では STZ 群に比べて TRAP 陽性破骨細胞が減少していた。

5. MPMBP 投与で僅かではあるが growth plate と肥大軟骨層が厚く STZ 投与で抑制された脛骨の成長に影響を示していると考えられる。



<腎障害 (アデニン摂取) での実験>

1. ラットにアデニンを摂取させ、開始後 3 週から MPMBP (1.2 mg/kg) 投与を開始し、4 週間継続投与後、大腿骨を採取した。
2. 大腿骨の解析で、MPMBP 群では storage modulus が維持され、pentosidine amide ratio が回復することが示された。

<線維芽細胞での培養実験>

老齢マウス由来細胞で観察された細胞内 ROS およびミトコンドリア内 O₂⁻の増加が、MPMBP 添加により完全に抑制された。すなわち、STZ 誘発糖尿病ラットでの MPMBP による骨強度・骨質改善には抗酸化作用が関与している可能性が示された。

(3-2) 波及効果と発展性など

腎障害モデルでの研究では他大学の腎臓高血圧内科および生体科学研究室との共同研究を行っており、本年度行った予備実験から、MPMBP 投与で骨弾性率が維持され終末糖化産物が減少するという結果が得られている。これは病態モデルラットでの骨質維持に対する MPMBP の有用性を示すものであるため、継続して本試験を行っている。また試料の力学的観点からの詳細な骨質評価については他大学工学研究科との共同研究を進行中である。

本研究で対象としている 2 種のタイプの骨粗鬆症の臨床症例では、いずれも生活習慣のみだれで産生される老化物質である AGEs による骨コラーゲン微細構造の異常が指摘されている。一方、MPMBP に特有の側鎖に基づく抗酸化作用 (論文発表 1) で AGEs が減少し骨質改善することが予想されたが、本研究の腎障害モデル予備実験において、これが部分的に実証された。糖尿病モデルでは MPMBP による骨量増加が認められたことから、十分な骨吸収抑制作用をもつと同時に既存の骨粗鬆症治療薬の問題点を改善する候補薬物として研究を継続する意義が示された。

さらに現在骨疾患治療薬として頻用されている他の

ビスホスホネートには見られない MPMBP の骨アナボリック作用や抗炎症作用の効果を期待して、ビスホスホネート関連顎骨壊死 (BRONJ) の回避や治療への適用の可能性についても検討する予定でありディスカッションを進めている。

骨折リスクを下げるために、骨を壊す破骨細胞の働きを抑えることが注目され、より強い骨吸収抑制作用をもつビスホスホネートが次々と開発され臨床応用されるに至った。しかし、成人においても常に新しい骨を作る骨代謝サイクル (骨リモデリング) を繰り返すことで骨質を維持しているにもかかわらず、薬物により骨吸収のみを強く抑制することで骨質劣化した古い骨が残る結果となってしまう。主な原因は既存の窒素含有ビスホスホネート (NBP) が骨吸収のみならず、それに続く骨形成をも抑制してしまうことにある。これを解決するために NBP とは異なるメカニズムで骨吸収抑制し、かつ骨アナボリック作用および抗酸化・抗炎症作用をもつ新規ビスホスホネート MPMBP の骨質維持作用についての研究を継続する。動物モデルで有用性が認められ、臨床応用の可能性が示されれば、非定型骨折や顎骨壊死などの副作用が軽減されるうえ、高齢者や全身疾患有病者においても骨密度上昇のみならず正常に近い骨質を維持できるという全く新しい特徴をもつ骨粗鬆症治療薬となることが期待される。

[4] 成果資料

論文発表

- (1) Suzuki, K.; Takeyama, S.; Murakami, S.; Nagaoka, M.; Chiba, M.; Igarashi, K.; Shinoda, H. Structure-Dependent Effects of Bisphosphonates on Inflammatory Responses in Cultured Neonatal Mouse Calvaria. *Antioxidants* **2020**, *9*, 503.
- (2) Tamai, R.; Suzuki, K.; Mashima, I.; Kiyoura, Y. MPMBP down-regulates Toll-like receptor (TLR) 2 ligand-induced proinflammatory cytokine production by inhibiting NF- κ B but not AP-1 activation. *Int. Immunopharmacol.* **2020**, *79*, 106085.

学会発表

- (1) 風間順一郎, 岩崎香子, 大和英之, 長岡正博, 金光卓也, 篠田壽, 鈴木恵子 MPMBP は腎障害ラットにおいて骨量を変化させずに骨強度を改善する. 第 44 回東北骨代謝・骨粗鬆症研究会 2023.2.