



Title	Alendronate treatment promotes bone formation with a less anisotropic microstructure during intramembranous ossification in rats
Author(s)	柏井, 将文
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49026
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	かし 柏 い 井 まさ 将 ふみ 文
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 2 1 8 4 4 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 20 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科臓器制御医学専攻
学 位 論 文 名	Alendronate treatment promotes bone formation with a less anisotropic microstructure during intramembranous ossification in rats (膜性骨化の過程においてアレンドロネート投与は材料異方性の低い骨基質の形成を促進する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 吉川 秀樹 (副査) 教 授 大藺 恵一 教 授 菅本 一臣

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

ビスフォスフォネート製剤（以下 BP）は強力な骨吸収抑制作用を持ち、その使用範囲は成人領域だけでなく特発性若年性骨粗鬆症、ステロイド骨粗鬆症、骨形成不全症など小児の骨疾患にまで拡大してきた。また骨折患者においても BP 投与は骨折治癒に対して悪影響を与えない為、BP 投与中止の必要はないとされている。BP 製剤投与の影響は、骨リモデリングへの影響と骨モデリングでの影響に二別される。長期間にわたる過剰量の BP 投与は、骨リモデリング抑制による微小骨折の蓄積や過度な石灰化促進による骨強度の低下を引き起こすことが報告されている。また成長軟骨板での破骨細胞・破軟骨細胞の活動を抑制することで内軟骨性骨化を阻害し、長管骨の骨長軸方向の成長障害を引き起こす可能性が指摘されている。しかしながら膜性骨化への影響に関してはこれまで検討が行われておらず、骨モデリングが旺盛な小児や骨折患者に対する BP 剤投与の是非については十分検討されているとは言い難い。我々は、膜性骨化で形成された皮質骨の構造特性・材料特性に対するアレンドロネート（以下 ALN）投与の影響について検討を行った。

〔 方法ならびに成績 〕

生後 1 週令のメスの SD ラット 48 匹を 6 群に分けた。PBS 投与を行った群を対照群とし、ALN の投与量は $35 \mu\text{g/kg}$ 、 $350 \mu\text{g/kg}$ の two dose を設定し、週に 1 回の皮下投与をそれぞれ 4 週間・8 週間行った。低用量 ALN 投与群では体重・大腿骨長ともにアレンドロネート投与の影響を受けなかったが、高用量 ALN 投与群では 8 週間の投与による体重増加抑制を認め、大腿骨の骨長軸方向の成長抑制を認めた。両大腿骨 X 線写真で ALN の初回投与時期に一致した 2 本の骨硬化帯を同定し、横径方向に膜性骨化のみで成長した部分において以下の全解析を行った。

Peripheral Qquantitative CT (pQCT) を用いて断面全皮質骨領域および前後方・内外側の 4 箇所各関心領域の BMD を測定したところ、全皮質骨領域および各関心領域の BMD に関して対照群・低用量投与群間の有意差を認めなかった。次に、微小領域 X 線回折法を用いて、pQCT 測定領域にほぼ一致する直径 $500 \mu\text{m}$ 円内の生体アパタイト

結晶の骨長軸方向配向度を関心4領域にて測定した。膜性骨化にて形成された新生骨の配向度は、4週投与群では前方関心領域で、8週投与群では4箇所すべての関心領域で有意に低下した。 $(p<0.05)$ 特に材料異方性の高い前方領域で著しい低下を認めた。 $(p<0.05)$ 配向度の低下は、ALNによる骨芽細胞の材料異方化機構に対するALNの影響と考えられた。

さらに骨形態計測法を用いて骨芽細胞個々の機能について詳細な検討を加えた。低用量ALN投与群において外骨膜周囲長が有意に増加した。ALN投与により骨外膜に存在する骨芽細胞数は変化しなかったが、骨外膜での骨石灰化速度が増加した。 $(p<0.05)$ ALN投与により前方関心領域では有意な石灰化速度の増加を認めた $(p<0.05)$ が、後方関心領域では有意差を認めなかった。骨石灰化速度と骨基質異方性の間には強い負の相関を認めた。 $(r=-0.862, P<0.001)$ 微小押し込み強度試験による微小領域の材料強度解析を行ったところ、ALN投与により材料異方性の著しく低下した皮質骨前方領域での弾性率の有意な低下を認めた。 $(p<0.05)$

以上より骨芽細胞の骨石灰化速度により骨基質の異方性が規定されることが示された。また、ALN投与が骨外膜の骨芽細胞の骨形成を促進するが、形成された骨の材料異方性が低下することが示された。

〔 総 括 〕

頭蓋骨・鎖骨の成長や脊椎・長管骨の横径方向の成長は膜性骨化を通じて営まれる。骨基質としては組織化されていない線維骨は骨内膜側で吸収され、同時に骨外膜側では骨芽細胞による一次骨の形成が行われる。一次骨は骨表面に形成され、特定方向にコラーゲンとミネラルが配向した構造を持つ層状骨であり、コラーゲンの配向化などの骨基質の組織化は骨芽細胞によって制御されている。しかしながら骨芽細胞による骨基質の組織化制御の詳細についてはいまだ不明である。本検討によりアレンドロネートは、骨外膜に存在する骨芽細胞の骨形成速度を変化させることで、異方性が低く弾性率の低い骨基質の形成を促進することが示された。この結果は、骨モデリングが旺盛な小児や骨折患者に対してビスフォスフォネート剤を用いる場合、膜性骨化により形成される骨の材料特性が低下する可能性があることを示唆している。

論文審査の結果の要旨

骨代謝疾患の治療においてビスフォスフォネート製剤は不可欠な薬物であり、骨粗鬆症の第一選択薬として広く使用されている。しかしながらビスフォスフォネートは、骨と強固に結合することで体内に非常に長期間にわたって蓄積するという一面を持つ。これまで長期間の使用による問題として骨リモデリングの過度な抑制による骨質低下が指摘されてきたが、骨リモデリング、特に骨の成長を伴う小児期や骨折後の仮骨形成時に認められる膜性骨化に対するビスフォスフォネートの効果については明らかではなかった。本研究では、膜性骨化により形成される骨の構造特性および材料特性に対するアレンドロネートの効果が詳細に検討された。その結果、アレンドロネートは骨芽細胞による骨基質組織化に影響を与え、同剤投与により異方性の低い材料特性の低下した骨基質の形成を促進することが明らかとなった。本研究の結果は、ビスフォスフォネートによる加療を受けている小児患者や骨折治癒過程にある患者において、正常の膜性骨化の過程が営まれていない可能性があることを示唆しており、これは臨床の現場においてビスフォスフォネートを使用する上で非常に重要な知見であり、本研究は博士（医学）の学位授与に値する。