The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Fluvastatin improves osteoporosis in fructose-fed insulin resistant model rats through blockade of the classical mevalonate pathway and antioxidant action
Author(s)	華山, りえ
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58958
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、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

【136】

氏　　名	華（はな）　山（やま）　り　え
博士の専攻分野の名称	博　士（医学）
学　位　記　番　号	第　２５１５９　号
学位授与年月日	平成 24 年 3 月 22 日
学位授与の要件	学位規則第４条第２項該当
学　位　論　文　名	Fluvastatin improves osteoporosis in fructose-fed insulin resistant model rats through blockade of the classical mevalonate pathway and antioxidant action （フルクトース負荷インスリン抵抗性ラットモデルにおいてフルバスタチンはメバロネート経路の抑制及び抗酸化作用を介して骨粗鬆症を改善する。）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　森下　竜一 （副査） 教　授　小室　一成　　教　授　玉井　克人

論　文　内　容　の　要　旨

〔目的〕 現在の高齢化社会では生活習慣病と骨粗鬆症は急増しており双方に有効的な治療薬の需要は増え続けている。今回我々は破骨細胞に着目し、コレステロールの治療薬であるHMG-CoA 還元酵素阻害薬であるフルバスタチンの副次的効果として骨に対する効果を検討することを目的とした。

〔方法〕 破骨細胞分化因子(RANKL: receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand) 及びマクロファージ刺激因子(M-CSF: macrophage-colony stimulating factor)により刺激したラットの初代破骨細胞前駆細胞にHMG-CoA還元酵素阻害薬であるフルバスタチン、プラバスタチン、 更に抗酸化剤であるNAC (Nacetylcysteine)、PDTC (Ammonium pyrrolidinedithiocarbamate)を投与し、破骨細胞の分化能をトラップ染色にて、活性をピットフォーメーションアッセイ、増殖能をMTSアッセイ、活性酸素産生能をディクロロディヒドロ(DCF)蛍光染色にて評価した。更に生後５日齢の家兎の大腿骨より採取したmononuclear cell（破骨前駆細胞及び前骨芽細胞の混合細胞系）をVitaminD3（４mM)で刺激した後、HMG-CoA 還元酵素阻害薬の効果を同様の評価系を用いて行った。最後にフルクトース負荷インスリン抵抗性ラットモデルにおいて卵巣摘出術を行った後、HMG-CoA inhibitor投与を行い、X線骨密度測定装置 (DEXA)にて骨塩量の評価を行った。また、骨吸収定量のため、骨吸収に伴う分解産物として放出された尿中デオキシピリジノリンを測定した。

〔成績〕 ラットの破骨前駆細胞に対して、RANKL+M-CSF の刺激により破骨細胞への分化が確認されたが、フルバスタチン及び抗酸化剤である NAC や PDTC を投与するとその分化が抑制されていた。プラバスタチンではその抑制効果は認められたが、非常に弱かった。更に破骨細胞活性、細胞増殖能、活性酸素産生能においても RANKL+M-CSF の刺激による増加に対してフルバスタチンの抑制効果が認められた。これらのフルバスタチンによる破骨細胞抑制効果の機序を検討するため、アセチル Co-A からコレステロール合成経路における代謝産物の補充実験を行ったところ、Geranylgerany-pyrophosphate (GGPP)を投与することにより、フルバスタチンの破骨細胞に対する抑制効果が一部解除された。この結果より、この GGPP もしくはこれ以降の代謝産物により抑制効果が引き起こされていることが示された。

次に、破骨前駆細胞及び前骨芽細胞の混合細胞系において同様の評価を行った。つまり、前骨芽細胞が存在する条件下でフルバスタチンによる破骨前駆細胞への抑制効果が同様に認められるかを検討した。生後５日齢の家兎から採取した大腿骨を用いて、VitaminD3 投与を行うと破骨細胞への分化を認めた。この分化はフルバスタチンを投与すうことにより抑制された。更に GGPP 投与により、この抑制効果の一部が解除された。

最後にフルクトース負荷インスリン抵抗性ラットの卵巣摘出モデルを用いて、*in vivo* におけるフルバスタチンの破骨細胞並びに骨量に及ぼす影響を検討した。卵巣摘出により破骨細胞への分化誘導、骨量の減少が認められたが、フルバスタチン投与によりこの分化誘導の抑制及び骨塩量低下の抑制が認められた。尿中デオキシピリジノリン測定により卵巣摘出により骨吸収が促進することが示唆され、フルバスタチン投与により骨吸収促進は抑制された。

〔総括〕フルバスタチンはコレステロール低下以外にも破骨細胞の分化、活性、増殖、活性酸素産生能を抑制する作用を有しており、骨代謝に対する副次的な作用を有していることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

現在の高齢化社会では生活習慣病及び骨粗鬆症は急増しており双方に有効な治療薬の需要は増え続けている。これまで脂質異常症の治療薬の一つであるHMG-CoA還元酵素阻害剤が骨粗鬆症に対して骨塩量改善、骨折リスクの低下などの効果が認められるとの論文が散見されるが、一方で効果を認めないとの論文も認め、結論は得ていない。今回申請者は生活習慣病および骨粗鬆症合併ラットモデルを用いて、HMG-CoA還元酵素阻害剤の一つであるフルバスタチンの投与により、破骨細胞活性の抑制を引き起こしその結果骨塩量の低下が改善することを示した。この機序として、in vitro の解析よりメバロネート経路の抑制、更には抗酸化作用による活性酸素の産生抑制により破骨細胞の活性、分化を抑制していることを示した。このように、フルバスタチンが破骨細胞に対して抑制的に働くこと、またその機序の詳細な解明、更にはラットモデルにおける効果の確認等すべて初めて報告されることであり、この研究結果は学位に値すると考える。