

平成19年11月

谷島伸二 学位論文審査要旨

主査 井藤久雄
副査 重政千秋
同 豊島良太

主論文

Minodronic acid influences receptor activator of nuclear factor
 κ B ligand expression and suppresses bone resorption by osteoclasts in rats with
collagen-induced arthritis

(コラーゲン誘発関節炎ラットにおいてミノドロン酸はreceptor activator of nuclear
factor κ B ligand の発現を制御し、破骨細胞の骨吸収作用を抑制する)

(著者：谷島伸二、岸本勇二、深田悟、水村浩之、萩野浩、豊島良太)

平成19年7月 Modern Rheumatology 17巻 198頁～205頁

学 位 論 文 要 旨

Minodronic acid influences receptor activator of nuclear factor κ B ligand expression and suppresses bone resorption by osteoclasts in rats with collagen-induced arthritis

(コラーゲン誘発関節炎ラットにおいてミノドロン酸はreceptor activator of nuclear factor κ B ligand の発現を制御し、破骨細胞の骨吸収作用を抑制する)

ビスホスホン酸は骨吸収抑制作用を持つ物質で、第一、二世代のそれは骨粗鬆症の治療薬剤として用いられている。ミノドロン酸は第三世代ビスホスホン酸に分類される新規の物質で、骨吸収抑制活性は最も高い。本研究は、コラーゲン誘発関節炎 (collagen-induced arthritis、CIA) ラットを対象に、ミノドロン酸の関節炎と骨吸収に対する効果を組織学的・免疫組織学的手法を用いて明らかにすることを目的として行った。

方 法

7 か月齢 SD 系雌ラットを以下の 4 群に分けた。

1. 無処置 (n=4) : Cont 群
2. CIA+placebo 投与 (n=4) : CIA-P 群
3. CIA+ミノドロン酸低用量 (0.2mg/kg/2day) 投与 (n=4) : CIA-BIS 群
4. CIA+ミノドロン酸高用量 (2.0mg/kg/2day) 投与 (n=4) : CIA-BIS10 群

コラーゲン感作の翌日からミノドロン酸を投与し、感作後4週で屠殺し、膝関節を採取した。検討項目と方法は、1) 体重、関節炎の推移、2) 膝関節のHE染色による組織学的評価、3) 酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ (tartrate-resistant acid phosphatase, TRAP) 染色による破骨細胞数の評価、4) 免疫染色、ウエスタンブロット法によるreceptor activator of nuclear factor κ B (RANK)、RANK ligand (RANKL)、osteoprotegerin (OPG) の発現の評価、5) TUNEL法による破骨細胞アポトーシスの評価、である。

結 果

体重、関節炎 : Cont 群では体重変化を認めなかった。CIA の 3 群の体重は Cont 群に比べて有意に減少していた。CIA の 3 群の関節炎発症率は感作後 4 週で 100%であった。その時

点の関節炎点数は CIA-BIS10 群で、CIA の他の 2 群に比べ有意に低値であった。後肢腫脹も CIA-BIS10 群で、CIA の他の 2 群に比べて有意に軽度であった。

膝関節の HE・TRAP 染色：Cont 群にはパンヌス形成や骨破壊は認められなかった。CIA-P 群では、大腿骨内側後顆の関節軟骨辺縁から増殖したパンヌスが骨端骨髄に侵入し、多数の破骨細胞が骨梁を吸収破壊していた。CIA-BIS 群ではパンヌス形成と骨破壊は CIA-P 群と比較して軽度であった。CIA-BIS10 群ではそれらの変化はほとんど見られなかった。Cont 群では骨端骨髄に TRAP 陽性細胞を認めなかった。CIA-BIS10 群では CIA の他の 2 群に比べて、TRAP 陽性細胞数の有意な減少を認めた。

RANK、RANKL、OPG：Cont 群の組織に RANK の発現を認めなかった。CIA-P 群では増殖したパンヌスの細胞と骨端骨髄のパンヌス近傍の骨表層細胞に強く発現していた。CIA-BIS 群ではパンヌスの細胞と骨表層細胞に発現を認めたが、CIA-P 群と比較して発現は軽度であった。CIA-BIS10 群では発現はごく軽度であった。RANKL の発現様態は RANK と同様であった。OPG はパンヌスの細胞や骨表層細胞に 4 群とも同程度に発現していた。

ウェスタンブロット法では、CIA-P 群と CIA-BIS 群に RANK, RANKL の発現を認めたが、Cont 群と CIA-BIS10 群には発現を認めなかった。

TUNEL 染色：4 群すべての組織に TUNEL 陽性細胞は認められなかった。

考 察

CIA-BIS10 群では CIA-P 群に比べて後肢腫脹とパンヌス形成は軽度で、破骨細胞も減少しており、ミノドロン酸は CIA ラットの関節炎と骨吸収の両者を抑制することが判明した。ミノドロン酸による破骨細胞のアポトーシス誘導の所見はなく、RANK と RANKL の発現を抑制していた。したがって、ミノドロン酸の骨吸収抑制機序は、破骨細胞アポトーシスの誘導ではなく、RANK-RANKL 系を介した破骨細胞の分化・活性化の抑制に由来すると考えられた。RANK-RANKL 系の抑制機序については、ミノドロン酸の骨芽細胞と破骨細胞への直接的な作用と炎症性サイトカインを介した間接的な作用が想定されるが、本研究では明らかにすることができなかった。

結 論

ミノドロン酸は CIA ラットの関節炎と骨吸収を抑制し、それはミノドロン酸の RANK-RANKL 系の抑制に起因すると考えられた。