



Estimation of the effects of prednisolone on bone metabolism in rats by biochemical markers

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-29 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 小山, 新太郎 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1583

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 306号	学位授与年月日	平成11年 6月18日
氏 名	小 山 新太郎		
論文題目	Estimation of the effects of prednisolone on bone metabolism in rats by biochemical markers (ステロイドがラットの骨代謝におよぼす影響－骨代謝マーカーを用いての検討－)		

博士(医学) 小 山 新太郎

論文題目

Estimation of the effects of prednisolone on bone metabolism in rats by biochemical markers

(ステロイドがラットの骨代謝におよぼす影響—骨代謝マーカーを用いての検討—)

論文の内容の要旨

〔目的〕

ステロイド投与患者における骨粗鬆症の発生頻度は30～50%とされ、投与初期の骨量の減少率は大きく、ヒトではCa呼吸量の低下、尿中Ca、ハイドロキシプロリン排泄量の増加がみられる。これら生化学的变化はX線骨の粗鬆化が認められない時期に出現するため、投与初期からの骨代謝状態の把握が重要である。今回、我々は骨吸収マーカーである尿中ピリジノリン(Pyr)、デオキシピリジノリン(Dpyr)、骨形成マーカーである血清オステオカルシン(OC)を測定しステロイド投与が骨代謝に与える影響をラットを用い経時的に観察した。

〔方法〕

5 適齢の近交系メスWistar rat 24匹を用いた。標準食下、3 群に分け、normal saline[GroupA(8 rats)]、prednisolone(25mg/kgBW)[GroupB(8 rats)]、prednisolone(50mg/kgBW)[GroupC(8 rats)]、それぞれの薬剤を毎週2回づつ4週間、殿筋内に注射した。1週毎に24時間尿採取及び採血を行った。実験終了後、骨を摘出し、第4、5腰椎、右大腿骨は骨塩量測定に、左大腿骨は乾燥重量、灰分重量測定に、また左脛骨は骨中Pyr、Dpyrおよびハイドロキシプロリンの測定に用いた。

尿中Pyr、Dpyrは尿を加水分解後、高速液体クロマトグラフィにて測定した。血清OCはSandwich ELISA法にてintactOCを測定した。骨中Pyr、Dpyrは摘出した脛骨を脱灰、加水分解後、尿中Pyr、Dpyrと同様に測定した。骨乾燥重量、灰分重量はMuffled furnaceにて摘出骨を120℃で乾燥させ乾燥重量を、さらに800℃で焼却し灰分重量を測定した。骨密度はLunar社製DPXにて測定した。

〔結果〕

骨密度：プレドニゾロン投与群はコントロール群に対し低く、50mg/kg投与群の大腿骨骨密度で統計学的に有意に低かった。骨乾燥重量、灰分重量：乾燥重量はプレドニゾロン投与群で低下傾向があり、灰分重量は50mg/kg投与群で有意に低下していた。尿中Pyr、Dpyr：尿中Pyrは、25mg/kgおよび50mg/kg投与群の1週目ではコントロール群に対し低く、その後上昇に転じた。25mg/kg投与群では5週目で増加していた。50mg/kg投与群では3、4、5週目でコントロール群に対し有意に増加していた。尿中Dpyrは25mg/kg投与群の3週目まではコントロール群と同様に低下するが、それ以後増加傾向に転じ5週目において高値であった。50mg/kg投与群では1週目で低下し、3、4週目でコントロール群に対し有意に増加していた。血清OC：50mg/kg投与群の4週目でコントロール群に対し有意に低下していた。他の時点では有意な変化はなかった。血清Ca、P：血清Caは50mg/kg投与群の1週目で、25mg/kg投与群では2週目でコントロール群に対し有意に低下していた。血清Pには変化はなかった。血清Al-p：プレドニゾロン投与群の3週目で上昇し、特に50mg/kg投与群で有意に増加した。骨中Pyr、Dpyr：骨中Pyr、Dpyrとも50mg/kg投与群でコントロール群に対し有意に低下していた。

〔考察〕

乾燥重量、灰分重量の低下、骨密度の低下より考え、プレドニゾン50mg/kg投与にてラットのステロイド骨粗鬆症モデルを作製し得た。ラットにおけるステロイド骨粗鬆症モデルは、これまで大部分が低Ca食との併用にて確立されているが、ラットはCa吸収においてよく発達した機構を有するため、標準食下で骨粗鬆症モデルを作成するには比較的大量のプレドニゾンを投与する必要がある。

尿中Pyr、Dpyrはプレドニゾン投与群で一旦低下傾向を示した後、上昇に転じていた。この事より骨吸収はプレドニゾン投与初期においては抑制され、以後吸収亢進へと転じ、骨組織への影響は経時的に変化すると推測される。一方血清OCには明らかな低下は見られなかった。これは、1)血清OCには日内変動が存在しプレドニゾンの投与時期によって抑制の程度が異なる、2)血清OCの半減期が1～2時間と短くプレドニゾンの影響を週1回の採血では反映できない、等の要因が考えられた。

〔結論〕

ラットに4週間プレドニゾンを投与し骨代謝に及ぼす影響を観察した。骨吸収マーカーである尿中Pyr、Dpyrの測定より骨吸収は経時的に変化し最終的に骨吸収の亢進が起こることが明らかとなった。骨形成において血清OCの経時的変動は明らかにできなかったが、骨中Pyr、Dpyrの減少により骨形成は抑制されたと考える。

論文審査の結果の要旨

骨粗鬆症は骨代謝の面から極めて重要な疾患であるが、ステロイドホルモンすなわち糖質コルチコイド投与はその病因として中心的なものの一つである。近年のごとく高齢人口の比率が増加し、また骨代謝に影響を与える薬剤が使用される可能性がある場合には、骨粗鬆症はより注目すべき疾患となり、その病因・病態の解明や治療法の検討は臨床上也重要課題の一つとなっている。申請者はステロイドホルモンをラットに投与することにより実験的骨粗鬆症を作成し、各種の骨代謝マーカーを指標として研究を行った。

5週齢のWistarラットを3群に分け、カルシウム制限を行わない標準食下で、プレドニゾンを体重あたり25mg/kgおよび50mg/kgの量で、週2回4週間投与しコントロール群と比較した。骨吸収マーカーとしては尿中ピリジノリン(Pyr)およびデオキシピリジノリン(Dpyr)を、骨形成の指標としては血清オステオカルシン(OC)を中心として経時的に評価した。骨密度はDXA(dual energy X-ray absorptiometry)で測定され、大腿骨乾燥重量・灰分重量は4週後の実験終了時に計測された。

プレドニゾン投与群では骨塩量の指標は低下傾向を示し、特に50mg/kg投与群で大腿骨の灰分重量および骨密度が有意の低下を示し、骨粗鬆症となっていることが確認された。PyrおよびDpyrは第3・4週で有意の高値をとり、骨吸収が亢進していることが明らかとなった。OCはコントロール群で第3・4週で増加傾向を示すが、50mg/kg投与群ではその上昇が見られず、第4週で有意の低値となり、骨形成が低下していることが示唆された。

本研究ではラットに対しプレドニゾン50mg/kgの週2回投与を、4週間継続すると骨粗鬆症が発症することが示され、これは骨粗鬆症の研究において良い実験的モデルとなりうることが確認された。

骨代謝マーカーとしては近年良好な指標であることが報告されているPyr、Dpyr、OCなどを中心として検討がなされた。実験の後半でPyrとDpyrの上昇とOCの低下を認めたことは、骨吸収の亢進と骨形成の低

下を示しており、骨粗鬆症の発症と適合する結果であると考えられた。

本研究は以下の点が新たな知見、独創的な点として評価された。すなわち(1)骨粗鬆症モデルは低カルシウム食併用により作成されることが多かったが、本研究ではプレドニゾン投与のみによって骨粗鬆症を発症させた。(2)このモデルにおいては食事性の因子の関与を除外することが可能であり、容易に実験系を確立出来るばかりでなく、臨床上も重要であるステロイド骨粗鬆症の病態や治療法の研究に役立つことが期待される。(3)骨代謝の評価のためにPyr、Dpyr、OCなどの比較的新しく発見され、現時点では良好なマーカーであるとされているものを使用して研究を行った。(4)骨密度とともに骨の乾燥重量・灰分重量などを直接測定し、骨粗鬆症の病態を詳細に評価した。

この発表に際して申請者に対して次のような質問がなされた。

- 1) ラットの食事内容とカルシウム摂取量
- 2) プレドニゾンの投与法
- 3) 雌ラットを使用した理由と意義
- 4) 骨吸収に対する副甲状腺ホルモンの役割
- 5) 骨吸収マーカーとしてのPyr、Dpyr、パイドロキシプロリンの特徴
- 6) OC以外の骨形成マーカーの種類と意義
- 7) 身体計測値の変動について
- 8) 骨の乾燥重量および灰分重量の測定法
- 9) Pyr、Dpyrの測定法とその再現性
- 10) 骨密度の測定にDXA法を使用した理由
- 11) OCの日内変動および半減期
- 12) プレドニゾンの投与量と本研究の臨床的意義

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分理解しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者 主査 大 関 武 彦

副査 堀 内 健太郎 副査 菱 田 明