

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 4 日現在

機関番号：34448

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590902

研究課題名(和文)骨リモデリングにおけるRA系関与機構とARB骨保護作用：老年者高血圧治療の新概念

研究課題名(英文)Role of RAS in bone remodeling and protective effect of ARB on bone density

研究代表者

青木 元邦 (Aoki, Motokuni)

森ノ宮医療大学・保健医療学部・教授

研究者番号：00346214

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円、(間接経費) 1,260,000円

研究成果の概要(和文)：RA系の骨リモデリングにおける役割解明として、動物モデルを用いて骨形成系に及ぼす影響を検討したが明らかな影響は確認できなかった。しかし、アンジオテンシンII持続投与肋骨骨折モデルにて、軟骨細胞分化マーカーの発現亢進を伴う仮骨形成肥大・骨折修復遅延を認め、RA系の軟骨代謝における役割の一部を解明できた。また「高血圧・閉経後・廃用症候群患者に対するアンジオテンシンII受容体拮抗薬(ARB)の骨密度に及ぼす影響」での検討では、Ca拮抗薬群で骨吸収マーカーの亢進と骨密度低下を認めたのに対し、ARB群では骨吸収マーカー上昇抑制と骨密度低下抑制を認め、ARBの骨粗鬆症進展に対する優位性を示唆できた。

研究成果の概要(英文)：The present study demonstrated that Ang II promoted hypertrophic differentiation of chondrocytes independently of high blood pressure, resulting in the delay of fracture healing. These data would provide a new therapeutic strategy focusing on RAS for cartilage degenerative disease. Also, our clinical study demonstrated the inhibitory effects of ARB on bone resorption in the hypertensive patients with accelerated bone resorption such as high-aged bed-ridden women with disuse syndrome. In the elderly hypertensive patients, ARB might be expected to have additional beneficial potential to maintain the bone health in bed-ridden patients, beyond its blood pressure-lowering effect.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科学一般

キーワード：レニン-アンジオテンシン系 骨粗鬆症 骨リモデリング 軟骨細胞 アンジオテンシンII受容体拮抗薬

1. 研究開始当初の背景

高血圧と骨粗鬆症は高齢化社会において急増している疾患であり、一見独立した疾患であるが、共に老化により進行する。血圧と骨密度との相関・降圧剤の骨代謝メカニズムへの影響・降圧剤と骨折リスクに関する臨床研究に関する報告が散見され、独立した両疾患になんらかの病態メカニズムの関与が示唆される。申請者らは骨代謝におけるレニン-アンジオテンシンシステム (RA 系) の役割についての基礎研究のデータを既に報告している。すなわち、Ang II が骨芽細胞に作用し、ERK を介して NFκB ligand (RANKL) の発現上昇を惹起し、Tartrate-Resistant Acid Phosphatase (TRAP) 陽性多核破骨細胞を増加させ破骨細胞分化を誘導することを示した。これは RA 系が骨リモデリングにおいて骨吸収系に關与していることを示している。また海外の臨床研究においてアンジオテンシン II (Ang II) 受容体拮抗薬 (ARB) が骨折リスクを有意に軽減したことも報告され、RA 系と骨リモデリングの相関は強く示唆されるが、ARB が骨吸収系に及ぼす影響を直接検討した臨床研究はない。また、骨形成系に及ぼす RA 系の影響は不明な点が多い。骨形成細胞の機能変化すなわちオステオポンチン・オステオネクチン・オステオカルシン等の骨基質蛋白に注目した検討が必須である。さらに骨代謝に RA 系の関与が示唆されることから、骨折修復過程に RA 系・ARB が及ぼす影響も考えうるが、その検討はこれまでにされていないのが現状である。

2. 研究の目的

骨粗鬆症マウス・骨折モデルマウスを用いて、骨形成系・骨折治癒機転における RA 系を軸とした分子メカニズム・ARB による骨リモデリング過程の変化について、骨基質蛋白を中心に検討する。

探索的なヒト臨床研究を実施する。ARB (オルメサルタン) とカルシウム拮抗薬 (アムロジピン) を用いたヒト臨床研究において、各種薬剤投与群での骨密度・骨基質蛋白を含む各種骨代謝マーカー・新規骨折イベント発生数を時系列的に評価し、ARB の骨保護作用に関する優位性をヒト臨床研究において明らかにする。

3. 研究の方法

卵巣摘出骨粗鬆症モデル・5/6 腎摘出高血圧モデル・Ang II infusion モデル・Ang II infusion 肋骨骨折モデルにおいて、骨形成系・骨折治癒機転における RA 系の関与・ARB の及ぼす影響に関して各種分子生物学的手法を用いて検討する。

ヒト臨床研究「高血圧・閉経後女性・廃用症候群患者に対するアンジオテンシン II 受容体拮抗薬の粗鬆症予防効果に関する検討」(対象) ARB・ACE 阻害剤・利尿剤以外で治療されている 75 歳以上の閉経後の女性高血

圧患者で bedridden であり費用症候群を有する患者。

(研究デザイン) 文書同意を取得後、オルメサルタン投与群・アムロジピン投与群に無作為に割付 (封筒法) を実施し、1 年間の継続投与を行う。各群 25 名の計 50 名を目標とする。

1. オルメサルタン群: 10mg から開始し可能なら 40mg まで増量する。
2. アムロジピン投与群: 登録時に他の Ca 拮抗薬を投与されている患者はアムロジピンに切り替える。5mg から投与開始とするが、2.5mg からの投薬も可とする。

(評価項目)

1. 主要評価項目: DEXA により大腿骨近位部・大腿骨頸部・腰椎の骨密度を 6 か月毎に測定。
2. 副次評価項目: 下記項目を 3 か月毎に測定。
血中骨代謝マーカー: オステオカルシン, Ca, P, BAP, ペントシジン, イオン化 Ca, intact PTH, 1,25(OH)₂vitaminD, 骨型 ALP inorganic phosphate,
尿中マーカー: deoxypyridinoline, Ca, Na, calcium/sodium ratio, I 型コラーゲン架橋 N-テロペプチド, ヒドロキシプロリン
3. 副次評価項目: 新規骨折・骨粗鬆症の発症等のイベント発生数

4. 研究成果

各種モデル動物において RA 系亢進・Ang II 投与・ARB 投与が ALP, オステオポンチン・オステオネクチン・オステオカルシンの発現に影響を及ぼさなかった。本研究では RA 系は骨芽細胞分化や骨形成系には影響を及ぼさなかった。しかし、Ang II infusion 肋骨骨折モデルにおける骨折修復過程において仮骨形成肥大による骨折修復遅延が確認された。

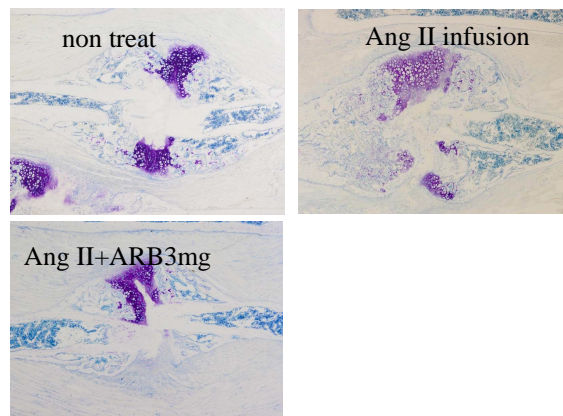


図 1: トルイジンブルー染色による仮骨染色

図 1 に示すように、Ang II にて仮骨は肥大形成され、ARB 投与により抑制された。Ang II の持続投与にて血圧は上昇するが、ヒドララジン投与では仮骨肥大が抑制されないこと

から、血圧上昇とは独立した Ang II によるものと考えられた。これは Image J による仮骨エリア計測において Ang II 持続投与による有意な上昇を確認できた。このことから、Ang II は骨芽細胞分化・骨形成系には影響を及ぼさないものの、軟骨細胞へなんらかの影響を及ぼすことが示唆された。さらに仮骨部位において肥大軟骨細胞の集積を認め、軟骨細胞分化を Ang II が促進している可能性が示唆された。

さらに軟骨細胞分化マーカーであり、肥大軟骨細胞のマーカーである type X collagen (col 10), SOX9, MMP13 の mRNA 発現が亢進しており、Ang II が肥大軟骨細胞分化を促進している可能性がさらに強く示唆された(図2)。ヒドララジンでは抑制が見られないことから、血圧に依存しない Ang II の作用と考えられた。

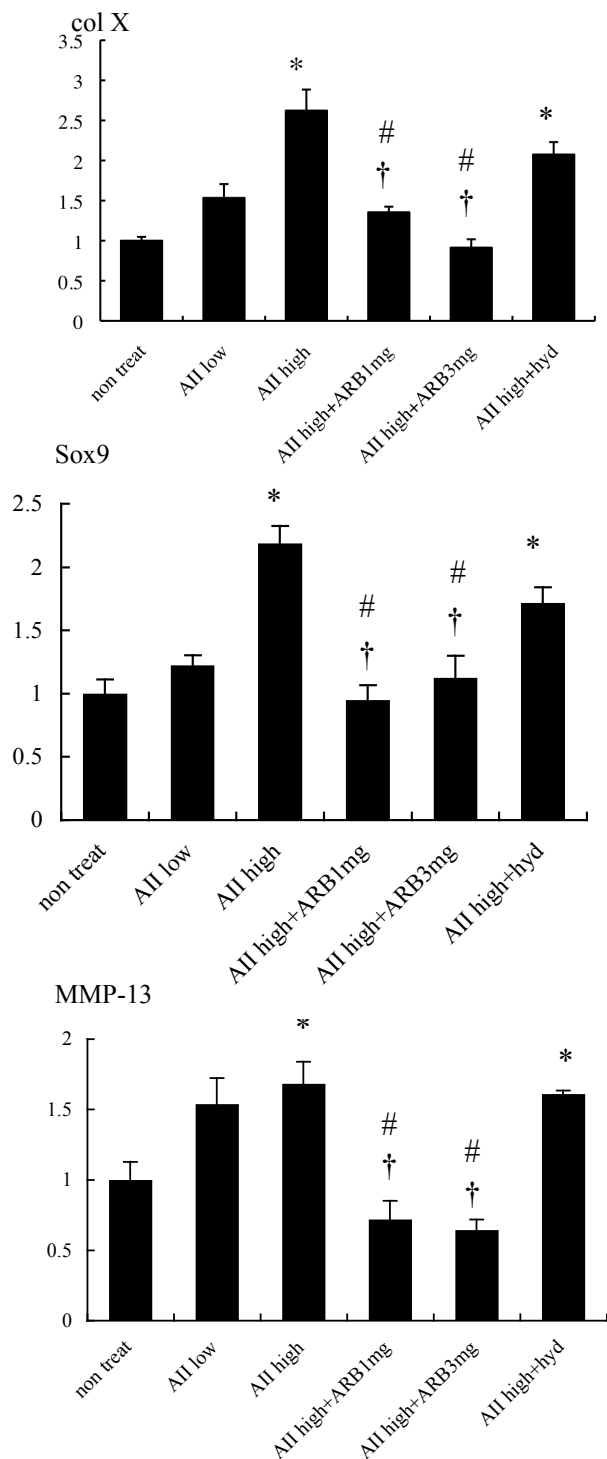


図2：仮骨部位における type X collagen (col 10), SOX9, MMP13 の mRNA 発現

† vs AII high * vs non treat # vs hyd

また、軟骨細胞に Ang II 受容体が発現していることを確認するため、マウス骨端線で Ang II タイプ I 受容体の発現を免疫染色にて検討したところ、肥大軟骨細胞で強い発現が、増殖軟骨細胞でも弱い発現が認められ、Ang II が軟骨細胞へ影響を及ぼしうることが示された。

これらの結果から、Ang II 投与は軟骨細胞の分化を促進し、肥大軟骨細胞集積を加速させることで仮骨肥大を形成し、骨折修復過程が遅延すると考えられた。肥大軟骨細胞はアポトーシスを起こして骨化が促進されるが、この過程における Ang II の役割についても詳細な検討が必要である。本研究では RA 系が骨形成系に及ぼす影響は確認できなかったが、これまで明らかでなかった RA 系の軟骨代謝における役割の一部を解明できた。

基礎研究で報告されている RA 系の骨吸収系における役割を臨床研究でも明らかにするため、「高血圧・閉経後女性・廃用症候群患者に対するアンジオテンシン II 受容体拮抗薬の粗鬆症予防効果に関する検討」を行った。当初の予定と変更し、ADL の低下した後期高齢者で廃用症候群に陥っている患者を対象とした。廃用症候群では骨吸収系が亢進していることが知られているが、骨密度が極度に低下しているこのような母集団での降圧薬の骨密度に対する影響の検討はこれまでに報告がない。

ARB 群 14 名、Ca 拮抗薬 (CCB) 群 17 名を対象にした。投与前に各パラメータに有意な差はなかった。両軍とも骨密度が低く、骨吸収マーカーである尿中デオキシピリジン (urinary DPD)・尿中 I 型コラーゲン架橋 N-テロペプチド (urinary NTx) が亢進している母集団であった。一方、オステオカルシン、BAP (骨型 ALP) は正常範囲内であり、骨吸収系が亢進している母集団であった。

図3に追跡調査における骨吸収マーカーの推移を示す。統計学的検討では、CCB 群ではその後の追跡調査にて尿中デオキシピリジン (urinary DPD) は6か月後に有意な上昇を認めたが、ARB 群では6か月において全値と有意差はなく、上昇が抑制されていると考えられた。尿中 I 型コラーゲン架橋 N-テロペプチド (urinary NTx) についても CCB 群では12か月で有意に上昇していたが、ARB 群では有意な上昇を認めなかった。

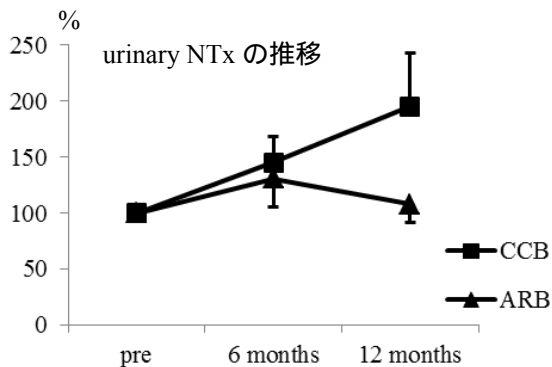
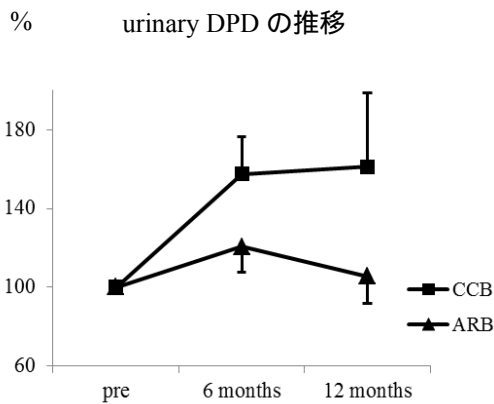


図3：ARB 投与群・CCB 投与群における骨吸収マーカの推移

一方、BAP(骨型 ALP)やオステオカルシンなどの骨形成マーカには変化はなかった。また骨密度は CCB 群では、骨吸収マーカの上昇に伴い経時的に低下していったが、ARB 群では低下が抑制されていた(図4)。統計学的検討で、6 か月において CCB 群と ARB 群で骨密度低下率に有意な差が確認できた。本研究では、血中 Ca 濃度、血中 P 濃度、尿中 Ca 濃度、尿中 P 濃度、副甲状腺ホルモン、活性型 Vit D に差異はなく、骨吸収系への RA 系の影響と考えられた。これまでに報告した基礎実験を臨床研究にて裏付けるものと考えられた。

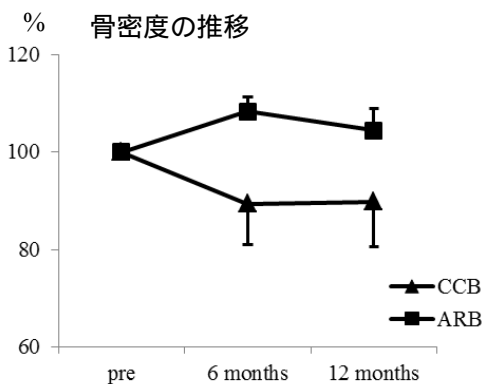


図4：ARB 投与群・CCB 投与群における骨密度の推移

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 2 件)

青木元邦、湯久浩、守口篤、志水秀朗、中神啓徳、荻原俊男、森下竜一「高齢者高血圧患者におけるアンジオテンシン受容体拮抗薬による骨密度減少の抑制効果」日本高血圧学会第一回臨床高血圧フォーラム 大阪 2012年5月12日

青木元邦、川畑浩久、荻原俊男「レニン-アンジオテンシン系が骨折修復過程に与える影響についての検討」第55回日本老年医学会学術集会 大阪 2013年6月6日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

青木元邦 (Motokuni Aoki)

森ノ宮医療大学・保健医療学部・教授

研究者番号：00346214

(2)研究分担者

中神啓徳 (Hironori Nakagami)

大阪大学・金沢大学・浜松医科大学連合小児

発達学研究科 教授

研究者番号：20325369

(3)連携研究者

川畑浩久 (Hirohisa Kawahata)

森ノ宮医療大学・保健医療学部・准教授

研究者番号：30454680

荻原 俊男 (Toshio Ogihara)

大阪大学医学系研究科名誉教授

研究者番号：60107042