

令和 4 年 5 月 31 日現在

機関番号：15201

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K16203

研究課題名(和文) TGF- $\beta$ に着目した糖尿病性骨粗鬆症の診療体制の確立研究課題名(英文) establishment of evaluation system for diabetic osteoporosis focusing on TGF- $\beta$ 

研究代表者

野津 雅和 (Notsu, Masakazu)

島根大学・学術研究院医学・看護学系・助教

研究者番号：50709144

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：2型糖尿病男性212例において、TGF- $\beta$ 濃度と骨折リスクの検討を行った。平均年齢62.6歳、罹病期間11.8年、HbA1c 9.3%。骨粗鬆症、椎体骨折、多発椎体骨折者数はそれぞれ88例、75例、34例。血中TGF- $\beta$ 1濃度は年齢( $r = -0.25$ )、罹病期間( $r = -0.17$ )と負相関、BMI( $r = 0.16$ )、eGFR( $r = 0.18$ )、TRACP-5b( $r = 0.19$ )と正相関を認めた。骨密度とは相関しなかった。血中TGF- $\beta$ 1濃度は椎体骨折あり群となし群(49580, 49810pg/mL)、骨粗鬆症あり群となし群(48505, 50604pg/mL)で差を認めなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の検討において、血中TGF- $\beta$ 濃度を用いた2型糖尿病における骨折リスク評価が困難であることが明らかとなった。依然として骨質劣化指標として有用な指標はなく、今後もより簡易かつ高精度に2型糖尿病患者の骨折リスクを評価する方法の開発が必要である。

研究成果の概要(英文)：We investigated TGF- $\beta$ 1 concentration and vertebral fracture risk in 212 male patients with type 2 diabetes mellitus. Average age 62.6 years, duration of diabetes 11.8 years, HbA1c 9.3%, respectively. The number of osteoporosis, vertebral fractures, and multiple vertebral fractures were 88, 75, and 34, respectively. Serum TGF- $\beta$ 1 concentration was negatively correlated with age ( $r = -0.25$ ) and disease duration ( $r = -0.17$ ). TGF- $\beta$ 1 concentration was positively correlated with BMI ( $r = 0.16$ ), eGFR ( $r = 0.18$ ), TRACP-5b ( $r = 0.19$ ). Serum TGF- $\beta$ 1 level did not correlate with bone mineral density. There was no difference in serum TGF- $\beta$ 1 concentration between the group with and without vertebral fracture (49580 vs 49810 pg / mL), and the group with and without osteoporosis (48505 vs 50604 pg / mL).

研究分野：骨代謝、糖代謝

キーワード：椎体骨折 2型糖尿病 骨粗鬆症 TGF-

## 1. 研究開始当初の背景

高齢者の増加により、骨粗鬆症性骨折は我が国において年々増加している。ひとたび大腿骨近位部骨折を発症すれば、一人当たりの手術および介護に約 **642** 万円を要するとされる。骨折に関する医療費は、医科診療医療費全体の約 **4%** を占め、その額は平成 **25** 年時点で約 **1兆1千万** 円と報告された。要介護認定を減らし、介護者の身体的および経済的な負担を減少させるため、骨折リスクが高い人の抽出および治療法の開発が必要である。

世界中、特にアジア地区で増加を続ける糖尿病患者数は、日本においても推計 **1000** 万人を超えた。その殆どは **2** 型糖尿病で占められている。インスリン分泌能が低いとされる遺伝的背景に、内臓脂肪蓄積をきたす食生活などの環境要因が加わり発症する。糖尿病患者において、合併症の発症は生活の質や健康寿命の妨げとなる。近年、糖尿病性骨粗鬆症は糖尿病合併症の **1** つと認識されている。疾患頻度が高い糖尿病性骨粗鬆症による骨折の予防ならびに治療法の確立が急務といえる。

我々は **2** 型糖尿病患者において骨密度非依存的に骨折リスクが高いことを明らかにした。**2** 型糖尿病患者では骨密度は健常者と比較して同等～やや高いにも関わらず、骨折リスクが増加していることを明らかとし、このことはメタ解析でも確認された。**2** 型糖尿病における骨折リスクの増加は、骨密度に依存しない骨折リスクの増加であり、その評価のためには骨密度測定のみでは不十分であることが明らかになった。骨折しにくさの指標である骨強度は、骨密度と骨質により規定される。このため、糖尿病性骨粗鬆症の評価には骨密度測定ではみえてこない骨質の評価が必要である。しかしながらこれまでに、実際の臨床において治療適応の決定に影響をあたえる骨質劣化指標は存在していない。

上述の通り、**2** 型糖尿病における骨折リスクの評価には、骨質を評価することが必要である。骨質は、骨微細構造などからなる構造特性や、コラーゲンの質や微小損傷の程度などの材質特性により規定される。骨質指標は、高分解能を有する画像検査や、直接的な骨組織の検鏡により評価されるが、これらを日常臨床で用いることは難しい。そこでわれわれは、骨折リスクを評価するためのバイオマーカーを探索した。まず、**2** 型糖尿病患者の骨代謝の特徴を検討した結果、**2** 型糖尿病では骨形成が低下していることを見出した。骨は微小損傷などで材質の劣化をきたすが、骨吸収により古い骨を壊し、骨形成により新しい骨をつくる骨リモデリングを絶えず繰り返すことで骨強度を維持している。糖尿病患者において骨形成能に影響をあたえる因子が重要であると考え、**TGF- $\beta$**  に着目した。

**TGF- $\beta$**  は多機能なポリペプチドで、増殖、分化、遊走などの様々な細胞機能に関わり、その主要な産生源は骨組織である。**2005** 年から **2010** 年にかけて報告された複数の **In vivo** の検討で、**TGF- $\beta$**  シグナルの増強が骨強度の低下をきたすと報告された。これまでに、慢性高血糖環境下で増加する終末糖化産物(**Advanced glycation endproducts : AGEs**)が、骨形成を担う骨芽細胞の分化を抑制し骨質劣化をきたすことが知られていた。筆者は、この作用を **TGF- $\beta$**  が介在することを明らかにした。次に、骨組織の **90%** 以上を占め、骨リモデリングの調節に中心的な役割をする骨細胞に着目した。骨細胞は骨芽細胞分化抑制因子 **sclerostin** と破骨細胞分化促進因子 **RANKL** の発現を介して骨リモデリングを制御している。筆者は、骨細胞を用いた検討により、**AGEs** が **TGF- $\beta$**  の発現増強を介して骨細胞の **sclerostin** 発現を増強することにより骨形成を抑制する可能性を見出した。これらの基礎的検討から、糖尿病性骨粗鬆症において骨形成が抑制される機序に **TGF- $\beta$**  が深くかかわっている可能性が示唆された。しかしながら、実際にヒトにおいて **TGF- $\beta$**  と骨折リスクの関連を明らかにした報告はなかった。

## 2. 研究の目的

本研究は、**TGF- $\beta$**  に着目した糖尿病性骨粗鬆症の診療体制を確立することを目的とした。具体的には、骨折リスクが高い治療対象者を抽出するために、血中 **TGF- $\beta$**  濃度測定の有用性を明らかにすることを試みた。

## 3. 研究の方法

### <基礎的検討>

**TGF- $\beta$**  の阻害により骨質劣化が改善しうるか、基礎的検討を計画した。具体的には、骨細胞様細胞や、成熟骨芽細胞株を用い、慢性高血糖状態に起因する **AGE** の添加により増加した **TGF- $\beta$**  が、骨形成抑制に寄与するか、さらには **TGF- $\beta$**  シグナルの抑制が、骨形成の抑制に寄与するかを明らかにするためまずは **In vitro** での検討を計画した。もし、**In vitro** で **TGF- $\beta$**  による骨形成抑制が示されれば、**In vivo** での検討を予定し、具体的には糖尿病モデルラットを用い、**TGF- $\beta$**  阻害薬の投与により、骨形成指標、骨強度 (大腿骨、**3** 点曲げ試験など)、骨密度、骨量構造などが改善するかを検討する研究を計画した。

### <臨床的検討>

**TGF- $\beta$**  が糖尿病性骨粗鬆症の骨折リスク評価指標となりうるか、臨床研究を計画した。当院に入院歴のある **600** 例(男性 **300** 例、女性 **300** 例)を対象に、血清 **TGF- $\beta$**  濃度と骨折の関連につ

いて検討を行うこととした。具体的には、身体所見、生化学・糖代謝指標、**DXA 法(QDR-4500、Hologic 社)**にて第**2-4**腰椎、大腿骨頸部、橈骨遠位**1/3**の骨密度を測定、胸腹部の単純エックス線撮影により既存椎体骨折の有無を判定、非椎体骨折の有無は問診にて確認した。血中**TGF-**濃度は**R & D systems**社のキットを用い**ELISA**法により測定、骨代謝マーカーとして、骨型**ALP**、オステオカルシン、**TRACP5b**を測定、血清**TGF-**濃度と**BMD**、骨代謝マーカーとの関係を重回帰分析、椎体骨折や全脆弱性骨折との関連をロジスティック回帰分析にて検討することを計画した。

#### 4．研究成果

基礎的検討について、骨細胞様細胞において、骨形成調節因子である**Sclerostin**や、骨吸収抑制因子である**RANKL**、そのデコイ受容体である**OPG**などを中心に、**AGE**および**TGF-**の関与をみたが、骨細胞様細胞におけるそれぞれの発現量が極めて低く、**ELISA**等での検出が困難、あるいは再現性を得られなかった。このため、成熟骨芽細胞である**UMR106**細胞などでも検討を行ったが、同様に結果に再現性が得られなかった。

臨床的検討について、期間内に男性患者の解析を終えた。**2**型糖尿病男性**246**例のうち、骨代謝未評価、骨粗鬆症治療中、**eGFR 30ml/min/1.73m<sup>2</sup>**未満は除外し**212**例を検討した。血中**TGF-1**濃度は**ELISA**法にて測定した。糖代謝、**Ca**代謝指標、骨代謝マーカー、骨密度および椎体骨折の有無を評価し、**TGF-1**濃度との関係を解析した。**212**例の平均年齢**62.6**歳、罹病期間**11.8**年、**HbA1c 9.3%**。骨粗鬆症、椎体骨折、多発椎体骨折者数はそれぞれ**88**例、**75**例、**34**例。血中**TGF-1**濃度は年齢( $r = -0.25$ )、罹病期間( $r = -0.17$ )と負相関、**BMI**( $r = 0.16$ )、**eGFR**( $r = 0.18$ )、**TRACP-5b**( $r = 0.19$ )と正相関を認めた(全て  $p < 0.05$ )。骨密度とは相関しなかった。血中**TGF-1**濃度は椎体骨折あり群となし群(**49580, 49810pg/mL**)、骨粗鬆症あり群となし群(**48505, 50604pg/mL**)で差を認めなかった。この原因として、**TGF-1**濃度に影響を及ぼす様々な因子、具体的には網膜症や腎症などの合併症、投与中の傾向血糖降下薬などの薬剤が血中濃度に影響したものと考えられた。今回の検討では、男性例約**200**例の検討にて、血中**TGF-1**濃度と椎体骨折、あるいは骨粗鬆症との関連を見出せなかった。血中**TGF-1**以外の**TGF-**、具体的には**TGF-2**、**TGF-3**と骨折あるいは骨粗鬆症との関連について、次なる課題と設定し、現在**ELISA kit**を用いて検討を行っている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 野津雅和、和田里美、小池抄代、田中小百合、守田美和、山本昌弘、金沢一平、山内美香、金崎啓造
2. 発表標題 2型糖尿病における骨脆弱性の予測因子としての血中TGF- $\beta$ 1濃度の有用性についての検討
3. 学会等名 第64回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 野津 雅和、守田 美和、山本 昌弘、金沢 一平、山内 美香、金崎 啓造
2. 発表標題 2型糖尿病男性における椎体骨折と血中TGF- $\beta$ 1濃度の関連についての検討
3. 学会等名 第23回日本骨粗鬆症学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------