

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 11 日現在

機関番号：27501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591223

研究課題名(和文)慢性腎臓病における骨折寄与因子の検討 - 骨組成変化に着目した解析 -

研究課題名(英文)Analyses of bone fragility factors focused on bone chemical composition in chronic kidney disease

研究代表者

岩崎 香子 (IWASAKI, YOSHIKO)

大分県立看護科学大学・看護学部・助教

研究者番号：10360059

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

研究成果の概要(和文)：慢性腎臓病(Chronic kidney disease：CKD)に合併する骨折リスクを増大させる要因やそれらが発生する原因について、骨の材質特性のひとつである骨組成に着目して検討したところ、CKDで生じる骨組成変化が骨代謝回転、ミネラル代謝調節ホルモン濃度、骨密度とは独立して骨力学特性に影響することが示された。この組成変化は尿毒症物質の蓄積阻害により軽減されることが明らかとなった。これらの知見から尿毒症環境の調整はCKDの骨脆弱性回避法の新たなアプローチのひとつになり得る可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Patients with chronic kidney disease (CKD) including dialysis patients have high risk of bone fracture. In order to elucidate the mechanisms underlying bone fragility in CKD patients we analyzed the bone material properties which indicate chemical composition. The bone samples from CKD represented lower storage modulus, which is one of mechanical properties, accompanied with the changes of bone chemical composition. These changes were influence on bone mechanical properties independent of bone mineral density, bone turnover, and hormones regulating bone metabolism. In addition, changes of bone chemical composition were improved by preventing accumulated uremic toxins in sera. These results suggest that controls for uremic conditions are possible new therapeutic approach for bone fragility.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・腎臓内科学

キーワード：腎性骨症 骨脆弱性 骨組成変化 ラマン分光法 骨折寄与因子

1. 研究開始当初の背景

腎臓が生体におけるミネラル調節器官であることから、その機能が低下した慢性腎臓病 (Chronic kidney disease: CKD) 患者は高い骨折リスクを有する。しかしながらどのような骨の状態が高い骨折リスクをもたらすかは明らかになっていない。

骨の強度は骨密度 (骨量) と骨質で規定されるが、CKD 患者では骨密度値が骨折リスク判定に腎機能正常者ほど有効でないことが報告されている。これは骨密度以外の要因 (骨質) が骨強度に大きく寄与しているということを想像させるが、CKD 骨の骨質については全く情報が得られておらず、どの程度寄与しているかも検討されていなかった。

2. 研究の目的

我々は骨質の中でも骨組成に着目して解析することで、CKD の骨折寄与因子の探索を試みることにした。骨組成の解析は材料分析分野で用いられる振動分光手法により解析可能であることがここ数年報告されている。ラマン分光法で検出される骨組成変化が骨折寄与因子となりえるか、組成変化を誘発する要因についても合わせて検討した。

3. 研究の方法

CKD 骨の骨組成変化とその誘発要因、力学強度との関連性を明らかにするために

- (1) 低代謝回転骨または高代謝回転骨を有する CKD 動物を作成し、骨組成をラマン分光法にて、骨力学特性を動的粘弾性試験にて解析し、それらの関連性を検討した。さらに腎機能との関連を検討した。
- (2) CKD 患者のうち、透析導入時に骨生検を行った患者のサンプルを振動分光手法にて解析し、生化学検査値、骨形態計測値との関連を検討した。
- (3) CKD 特有の環境因子である尿毒症物質についてタンパク結合型尿毒症物質が骨芽細胞に与える影響を検討し骨質への影響を考察した。

4. 研究成果

(1) CKD では副甲状腺ホルモン (parathyroid hormone: PTH) 濃度が高値を示すことが多いが、PTH 濃度の著しい高値は骨密度を極度に低下させるため、骨密度低下が骨強度に影響し、骨質因子の寄与を検討するには困難な状況を生み出す。そこでまず PTH 濃度が正常な CKD 動物を作成しその骨組成変化を検討した。その結果、腎機能低下に依存して組成が変化した。特にハイドロキシアパタイトの成熟度が増加しているにも関わらず結晶化度が低下していた。またコラーゲン生理架橋も成熟していたが、非生理架橋の増加が顕著であった。これらのサンプルの力学特性を検討したところ、CKD では貯蔵弾性率が著しく低下し、この低下には骨密度変

化、血中 PTH 濃度よりも骨組成変化が寄与していることが重回帰分析より示された。

さらに腎機能低下により血中に蓄積する尿毒症物質の蓄積防止剤を経口吸着剤にて行うと、骨組成変化が軽減されるだけでなく、力学低下も抑制することが可能であった。また血中尿毒症物質濃度は骨ミネラル代謝調節ホルモン濃度や骨密度値とは関連しなかった。同様に PTH 濃度の高い高回転骨を有する CKD 骨についても検討を行ったところ、観察される骨組成は腎機能低下に依存すること、アパタイトの結晶状態が骨密度よりも骨貯蔵弾性率に寄与することが明らかとなった。これらの結果から、腎機能低下により形成される尿毒症環境 (尿毒症物質蓄積) が骨組成を変化させ、骨力学強度低下要因の一つである可能性が示唆された。

(2) 透析患者 68 名の骨生検サンプルをラマン分光法にて解析を行った。骨形態計測によりその病型が分類されていたため、病型ごとに解析を行った。最も正常に近い骨代謝状態を呈する軽微変化型に対しいずれの病型もアパタイト結晶化度が低下していたがその他の指標には差は見られなかった。また生化学検査値との関連性もみられず、CKD 動物で得られた知見とは一部異なる結果であった。これは骨生検サンプルを採取するまでの病態履歴すべてが骨サンプルに反映されること、病態以外の治療などの影響が加味されている可能性が考えられた。透析患者の病変にみられる骨組成変化が CKD 特異的であるか、病型特異な変化を抽出することが可能かどうかは腎機能正常サンプルとの比較を行うことでしか明らかにできない。残念なことに腎機能正常者のサンプルが予定通りに集まらなかったため、今後引き続き検討を進めることで詳細を明らかにできると考える。

(3) 我々はこれまでタンパク結合型尿毒症物質の代表物質であるインドキシル硫酸 (indoxyl sulfate: IS) が骨芽細胞ならびに骨代謝に与える影響について詳細を明らかにしてきたことから、他のタンパク結合型尿毒症物質の骨芽細胞に対する影響を *in vitro* にて検討した。中でも p-cresyl sulfate (PCS) は細胞内酸化ストレスを亢進させない低濃度でも細胞内シグナル伝達系を変化させることにより細胞障害を誘発することを見出した。PCS は IS と同じ輸送体により細胞内へと流入することから輸送体阻害などが治療候補として考えられた。また IS, PCS をはじめとするタンパク代謝由来の尿毒症物質はその前駆物質を腸管内で吸着することが可能であるため、今回動物試験から見出した経口吸着剤による骨脆弱性進展抑制効果もこれらの尿毒症物質の蓄積回避によるものと考えられた。

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 4 件)

1. Iwasaki Y, Kazama JJ, Yamato H, Shimoda H, Fukagawa M. Accumulated uremic toxins attenuate bone mechanical properties in rats with chronic kidney disease. *Bone* 2013, 57(2): 477-83. (査読あり)
2. Tanaka H, Iwasaki Y, Yamato H, Mori Y, Komaba H, Watanabe H, Maruyama T, Fukagawa M. p-Cresyl sulfate induces osteoblast dysfunction through activating JNK and p38MAPK pathway. *Bone* 2013, 56(2): 347-54. (査読あり)
3. Iwasaki Y, Yamato H, Fukagawa M. Treatment with pravastatin attenuates oxidative stress and protects osteoblast cell viability from indoxyl sulfate. *Ther Apher Dial* 2011, 15(2):151-5. (査読あり)
4. Iwasaki Y, Kazama JJ, Yamato H, Fukagawa M. Changes in chemical composition of cortical bone associated with bone fragility in rat model with chronic kidney disease. *Bone* 2011, 48(6):1260-7. (査読あり)

[学会発表](計 19 件)

1. Iwasaki Y, Kazama JJ, Matsugaki A, Nakano T, Yamato H, Fukagawa M. Accumulated uremic toxins deteriorates bone material properties in rats with chronic kidney disease. 2nd Joint Meeting of International Society of Bone Mineral Society and

The Japanese Society of Bone and Mineral Research. (2013) May 30
Kobe, Japan

2. Iwasaki Y, Kazama JJ, Yamato H, Fukagawa M. Altered material properties are responsible for bone fragility in rats with chronic kidney disease. *Kidney Week 2013* (2013) November 18, Atlanta, USA
3. Iwasaki Y, Kazama JJ, Yamato H, Fukagawa M. Kidney dysfunction exacerbate bone strength through changing bone material composition. *International Society of Nephrology Nexus* (2012) September 20-23
Copenhagen, Denmark
4. Iwasaki Y, Kazama JJ, Yamato H, Fukagawa M. Accumulated indoxyl sulfate aggravate bone mechanical property with chronic kidney disease. *Kidney Week 2012* (2012) November 1, San Diego, USA.
5. Tanaka H, Iwasaki Y, Mori T, Komaba H, Watanabe H, Yamato H, Maruyama T, Fukagawa M. p-Cresyl sulfate deteriorates osteoblast function through Up-regulation MAPK cascade. *Kidney Week 2012* (2012) November 3, San Diego, USA.
6. Iwasaki Y, Kazama JJ, Yamato H, Fukagawa M. Changes of chemical composition affect bone mechanical property in early chronic kidney disease. *International Society of Nephrology 7thInternational Congress*

- on uremic research and toxicity.
(2011) May 13, Nagoya, Japan
7. 岡藤梨歩、岩崎香子：尿毒症物質 CMPF は骨芽細胞機能障害を惹起する。第 56 回日本腎臓学会学術集会 (2013) 5 月 11 日 東京
 8. 岩崎香子：腎臓と骨質 第 56 回日本腎臓学会ワークショップ 1 「腎臓とミネラル」(2013) 5 月 10 日 東京都
 9. 岩崎香子、桑原三恵子、菅野三喜男、風間順一郎：腎機能低下における骨弾性率と骨密度との関連 (第 58 回 日本透析医学会学術集会・総会 (2013) 6 月 21 日 福岡
 10. 岩崎香子、風間順一郎、松垣あいら、中野貴由、深川雅史：慢性腎臓病における骨脆弱性には骨密度変化よりもむしろ材質特性変化が関与する。第 15 回日本骨粗鬆症学会 (2013) 10 月 12 日 大阪府
 11. 岩崎香子：CKD と骨質。第 15 回日本骨粗鬆症学会シンポジウム 6 「CKD 患者の骨」(2013) 10 月 12 日 大阪府
 12. 田代沙知、岩崎香子：慢性腎臓病における骨代謝への尿毒症物質 p-Cresol とアルブミン濃度の関与 第 55 回日本腎臓学会学術集会 (2012) 6 月 2 日 神奈川県
 13. 岩崎香子、風間順一郎、大和英之、深川雅史：尿毒症物質の血中蓄積は骨脆弱性に関与する 第 55 回日本腎臓学会学術集会 (2012) 6 月 2 日 神奈川県
 14. 岩崎香子、松垣あいら、中野貴由、風間順一郎、大和英之、深川雅史：慢性腎臓病における易骨折性の要因 第 32 回日本骨形態計測学会 (2012) 6 月 9 日 大阪府
 15. 岩崎香子：慢性腎臓病での易骨折性骨質因子検討結果からの考察 第 30 回日本骨代謝学会 シンポジウム 3 「慢性腎臓病と骨ミネラル代謝」 (2012) 7 月 19 日 東京都
 16. 岩崎香子、松垣あいら、中野貴由、風間順一郎、大和英之、深川雅史：慢性腎臓病における易骨折性には骨質因子の変化が関与する 第 14 回日本骨粗鬆症学会学術集会 (2012) 9 月 20 日 新潟県
 17. 岩崎香子、大和英之、深川雅史：腎不全動物における骨中メーラード反応生成物蓄積と骨弾性率低下との関連 第 31 回日本骨形態計測学会 (2011) 5 月 22 日 岐阜県
 18. 河野歩美、大和英之、岩崎香子：高ホモシステイン血症による骨芽細胞機能低下は NMDA 受容体を介する 第 54 回日本腎臓学会学術集会 (2011) 6 月 15 日 神奈川県
 19. 岩崎香子、風間順一郎、大和英之、深川雅史：慢性腎臓病に伴う低代謝回転骨の易骨折性には骨組成変化が関与する 第 13 回日本骨粗鬆症学会 (2011) 11 月 5 日 兵庫県
- 〔図書〕(計 2 件)
岩崎香子、大和英之：医薬ジャーナル社 “ガイドラインサポートハンドブック 慢性腎臓病に伴う骨・ミネラル代謝異常 (CKD-MBD) 改訂版” 最新の話題と問題点 CKD-MBD と骨質. (2013) pp309-314

岩崎香子、大和英之：日本メディカルセンタ
ー “CKD-MBD ハンドブック 2nd edition”
CKD-MBD と骨質. (2013) pp297-302

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岩崎香子 (IWASAKI YOSHIKO)
大分県立看護科学大学・看護学部・助教
研究者番号：10360059

(2) 研究分担者

風間順一郎 (KAZAMA JUNICHIRO)
新潟大学・医歯学総合病院・准教授
研究者番号：10345499

(3) 連携研究者

矢野彰三 (YANO SHOZO)
島根大学・医学部・准教授
研究者番号：80403450