

氏 名 ・ (本籍)	木下 隼人 (秋田県)
専攻分野の名称	博士 (医学)
学 位 記 番 号	医博甲第 910 号
学位授与の日付	平成 28 年 3 月 22 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研 究 科 ・ 専 攻	医学系研究科医学専攻
学 位 論 文 題 名	Effects of eldecalcitol on bone and skeletal muscles in glucocorticoid-treated rats (糖質コルチコイド投与ラットにおけるエルデカルシトールの 骨・骨格筋に対する効果)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教授 河谷 正仁 (副査) 教授 西川 俊昭 教授 橋本 学

学 位 論 文 内 容 要 旨

Effects of eldecalcitol on bone and skeletal muscles
in glucocorticoid-treated rats

糖質コルチコイド投与ラットにおけるエルデカルシトールの
骨・骨格筋に対する効果

申請者氏名 木下隼人

研 究 目 的

高齢の骨粗鬆症患者は、疾患自体による骨脆弱性に加え、加齢に伴う筋力やバランス能力の低下により容易に転倒し、骨折を生じやすい。また、加齢とともに増加するビタミン D 欠乏は、高齢者の易転倒性の一因と考えられている。近年、骨粗鬆症治療薬として用いられている活性型ビタミン D3 は、骨吸収抑制による骨密度改善作用の他に、高齢者の易転倒性を改善することで、骨折を予防するとの報告が散見される。一方、高齢者の様々な疾患の治療に用いられることが多い糖質コルチコイド（ステロイド）は、骨粗鬆症および筋萎縮や筋力低下を伴うステロイドミオパチーを生じることが知られている。ステロイドミオパチーでは、下肢近位筋に多く含まれる II 型筋線維の萎縮により、転倒による骨折リスクが増加すると考えられる。本研究の目的は、新規活性型ビタミン D3 製剤であるエルデカルシトールが、高齢・ステロイド投与モデルラットの骨・骨格筋に及ぼす効果について検討することである。

研 究 方 法

6 カ月齢 Wistar 系雌ラットを用い、エルデカルシトールの溶媒と糖質コルチコイド（プレドニゾロン）を投与した群（PSL 群）、プレドニゾロンの溶媒とエルデカルシトールを投与した群（E 群）、エルデカルシトールとプレドニゾロンを投与した群（PSL+E 群）およびエルデカルシトールとプレドニゾロンの溶媒を投与した群（コントロール群）の 4 群で、投与期間を 2 週および 4 週とし、合計 8 群を作製した（各群 n=5-9）。測定項目は、薬剤投与前後の体重変化、右腓腹筋の電気刺激による最大筋張力ならびに筋疲労度、左前脛骨筋の平均筋線維断面積、右大腿骨の骨密度、および左腓腹筋における筋の分化・再生に関連する遺伝子（MyoD, myogenin, Pax7）の発現を検討した。筋疲労度は、[(最大筋張力－電気刺激後の筋張力) / 最大筋張力] × 100 (%) で求め、平均筋線維断面積は、50 個の筋線維断面積を無作為に選出し、その平均値を求めた。骨密度は、DXA 法を用い、大腿骨全体、近位部、骨幹部、遠位部の計 4 箇所を測定した。

研 究 成 績

体重変化は、4 週投与の PSL+E 群がコントロール群に比べ、有意に減少していた (p=0.0009)。最大筋張力は、4 週投与の PSL+E 群が PSL 群に比べ、有意に高値 (p<0.05) であった。II 型筋線維の平均断面積は、4 週投与の E 群および PSL+E 群が、PSL 群と比較し、有意に高値 (p=0.0093, p=0.0443) であった。2 週投与で大腿骨遠位部の骨密度は、E 群が PSL 群より有意に高値 (p=0.0261) で、4 週投与で大腿骨全体、近位部および遠位部の骨密度は、PSL 群が他の 3 群より有意に低値 (p<0.05-0.001) であった。骨幹部骨密度は、4 週投与で E 群が PSL 群より有意に高値 (p=0.0314) を示した。筋分化遺伝子のうち myogenin と Pax7 は、2 週投与の E 群と PSL 群がコントロール群と比較し、有意に発現していた。

結 論

以上の研究成績から、エルデカルシトールは、筋分化遺伝子の発現を促し、II 型筋線維の萎縮を防ぎ、高齢・ステロイド投与による筋力低下を予防すると考えられた。また、ステロイド投与による骨密度減少を抑制した。エルデカルシトールは、ステロイド性骨粗鬆症とミオパチーを予防する可能性がある。

学位（博士一甲）論文審査結果の要旨

主 査： 河谷 正仁

申請者： 木下 隼人

論文題名： Effects of eldecalcitol on bone and skeletal muscles in glucocorticoid-treated rats

(糖質コルチコイド投与ラットにおけるエルデカルシトールの骨・骨格筋に対する効果)

要旨

著者の研究は論文内容要旨に示すように、高齢・ステロイド投与モデルラットに対する新規活性型ビタミン D 薬であるエルデカルシトールの骨・骨格筋に及ぼす効果について、コントロール群・ステロイド投与群・エルデカルシトール投与群・ステロイド・エルデカルシトール併用群の 4 群に分け、2 週および 4 週の投与期間別に比較検討したものである。活性型ビタミン D 薬には骨密度維持の他に、転倒抑制による骨折予防効果が多数報告されており、転倒抑制因子の一つとして、近位筋の筋力維持効果が報告されている。しかし、エルデカルシトールが従来の活性型ビタミン D 薬と同様の転倒予防効果を示すかどうかの評価は殆どなされていない。筆者らは、初めてステロイド投与ラットの骨格筋を用いて、エルデカルシトールの筋分化遺伝子に及ぼす影響を、上記 4 群で比較検討した。

本研究の斬新さ、重要性、実験方法の正確性、表現の明瞭さは以下のとおりである。

1) 斬新さ

エルデカルシトールは、従来のビタミン D 薬とは異なる化学構造を有しており、今まで C2C12 細胞を用いて筋分化遺伝子を検討した報告は認めるものの、骨格筋自体に対する作用機序について検討した報告は少ない。本研究は、ステロイド投与ラットを用いて、エルデカルシトールの筋に対する影響を、筋分化遺伝子も含め検討した初の報告である。

2) 重要性

本研究ではエルデカルシトールが筋分化遺伝子の発現を増加させることを実証した。この結果より、エルデカルシトールが筋の分化を促し、筋線維断面積および筋力の維持、ひいては転倒・骨折予防に貢献する可能性を示した。エルデカルシトールは従来の活性型ビタ

ミン D 薬より骨密度維持効果・椎体骨折予防効果が高い薬剤であり，筋力維持による転倒予防効果が従来のビタミン D 薬と同様に認められることが証明された場合，転倒による骨折を従来のビタミン D 薬よりも強力に抑制する可能性がある。

転倒による骨折後に寝たきりとなる高齢者は多く，新規活性型ビタミン D 薬が骨格筋に及ぼす影響を検討した本研究は，臨床上非常に重要である。

3) 実験方法の正確性

本研究では，腓腹筋筋張力を測定する際に 0.3N の一定張力を加えてから行っており，計測開始時点での筋緊張を統一している。また，筋線維や筋遺伝子は電気刺激した脚とは反対の脚より採取したサンプルが用いられており，電気刺激による筋損傷の影響を少なくして行われている。各計測に用いた機器は同一の機器であり，機器の違いによるバイアスは認められない。刺激方法，測定手順は一定であり厳密に行っている。

さらに、全ての結果は統計学的検討が加えられており，実験方法は客観的で正確性がある。

4) 表現の明瞭さ

本研究の持つ意味，ステロイド・エルデカルシトールを一定期間投与した後の各種計測方法，評価項目，得られた結果，考察は簡潔かつ明瞭に記載されている。

以上述べたように，本論文は学位を授与するに十分値する研究と判定する。