

IAP family proteins and Smac/DIABLO expression after proapoptotic stimulation with doxorubicin in RPMI 8226 multiple myeloma cells. *Exp Mol Pathol* 83:405-412, 2007.

Iizuka A, Ikarashi Y, Yoshida M, Heike Y, Takeda K, Wakasugi H, Kitagawa M, Takaue Y. Interleukin (IL)-4 promotes T helper 2 biased-Natural Killer T (NKT) cell expansion, which is regulated by NKT cell-derived interferon- γ and IL-4. *Immunology* 123:100-107, 2007.

Matsumoto T, Kumagai J, Hasegawa M, Ohno K, Mizusawa H, Kitagawa M, Eishi Y. Expression patterns of metalloproteinase in primary central nervous system lymphoma differs from those in nodal lymphoma. *Neuropathology*, in press.

Nakagawa Y, Abe S, Kurata M, Hasegawa M, Yamamoto K, Inoue M, Takemura T, Suzuki K, Kitagawa M. IAP Family protein expression correlates with poor outcome of multiple myeloma patients in association with chemotherapy-induced overexpression of multidrug resistance genes. *Am J Hematol* 81:824-831, 2006.

Takai D, Park S-H, Takada Y, Ichinose S, Kitagawa M, Akashi M. UV-irradiation induces oxidative damage to mitochondrial DNA primarily through hydrogen peroxide: Analysis of 8-oxodGuo by HPLC. *Free Radical Res* 40:1138-1148, 2006.

Kurata M, Hasegawa M, Nakagawa Y, Abe S, Yamamoto K, Suzuki K, Kitagawa M. Expression dynamics of drug resistance genes, multidrug resistance 1 (MDR1) and lung resistance protein (LRP) during the evolution of overt leukemia in myelodysplastic syndromes. *Exp Mol Pathol*, 81:249-254, 2006.

【総説・著書】

山本浩平、北川昌伸。特集:老化の病理。老人の癌、特に造血器・リンパ球系腫瘍。病理解と臨床 24 巻、12 号 1282-1288、2006。

倉田盛人、北川昌伸。骨髄の構造。よくわかる病態生理 5 血液疾患。松尾 理編。日本医事新報社、2007 年

倉田盛人、北川昌伸。リンパ節の構造と機能。よくわかる病態生理 5 血液疾患。松尾 理編。日本医事新報社、2007 年

2. 学会発表

Mizutani S, Takagi M, Morio T, Horibe S, Kitagawa M. Clinico-pathological implications of ATM signaling pathways in the development of hematopoietic disorders. The 2006 International Workshop on Ataxia-Telangiectasia, Banff, Alberta, Canada, September 8th to 12th, 2006.

G. 知的財産所有権の出願・登録状況(予定も含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

multiple myeloma cells. *Exp Mol Pathol* 83:405-412, 2007.

Iizuka A, Ikarashi Y, Yoshida M, Heike Y, Takeda K, Wakasugi H, Kitagawa M, Takaue Y. Interleukin (IL)-4 promotes T helper 2 biased-Natural Killer T (NKT) cell expansion, which is regulated by NKT cell-derived interferon- γ and IL-4. *Immunology* 123:100-107, 2007.

Matsumoto T, Kumagai J, Hasegawa M, Ohno K, Mizusawa H, Kitagawa M, Eishi Y. Expression patterns of metalloproteinase in primary central nervous system lymphoma differs from those in nodal lymphoma. *Neuropathology*, in press.

Nakagawa Y, Abe S, Kurata M, Hasegawa M, Yamamoto K, Inoue M, Takemura T, Suzuki K, Kitagawa M. IAP Family protein expression correlates with poor outcome of multiple myeloma patients in association with chemotherapy-induced overexpression of multidrug resistance genes. *Am J Hematol* 81:824-831, 2006.

Takai D, Park S-H, Takada Y, Ichinose S, Kitagawa M, Akashi M. UV-irradiation induces oxidative damage to mitochondrial DNA primarily through hydrogen peroxide: Analysis of 8-oxodGuo by HPLC. *Free Radical Res* 40:1138-1148, 2006.

Kurata M, Hasegawa M, Nakagawa Y, Abe S, Yamamoto K, Suzuki K, Kitagawa M. Expression dynamics of drug resistance genes, multidrug resistance 1 (MDR1) and lung resistance protein (LRP) during the evolution of overt leukemia in myelodysplastic syndromes. *Exp Mol Pathol*, 81:249-254, 2006.

【総説・著書】

山本浩平、北川昌伸。特集:老化の病理。老人の癌、特に造血器・リンパ球系腫瘍。病理と臨床 24 巻、12 号 1282-1288, 2006.

倉田盛人、北川昌伸。骨髓の構造。よくわかる病態生理 5 血液疾患。松尾 理編。日本医事新報社、2007 年

倉田盛人、北川昌伸。リンパ節の構造と機能。よくわかる病態生理 5 血液疾患。松尾 理編。日本医事新報社、2007 年

2. 学会発表

Mizutani S, Takagi M, Morio T, Horibe S, Kitagawa M. Clinico-pathological implications of ATM signaling pathways in the development of hematopoietic disorders. The 2006 International Workshop on Ataxia-Telangiectasia, Banff, Alberta, Canada, September 8th to 12th, 2006.

G. 知的財産所有権の出願・登録状況(予定も含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

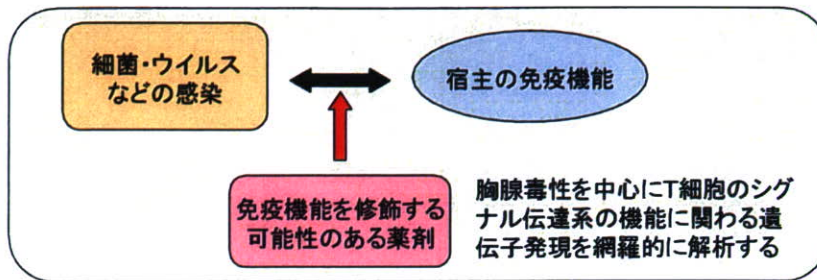
研究項目： T細胞機能に関わる胸腺毒性発現メカニズムに関する研究

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科包括病理学分野

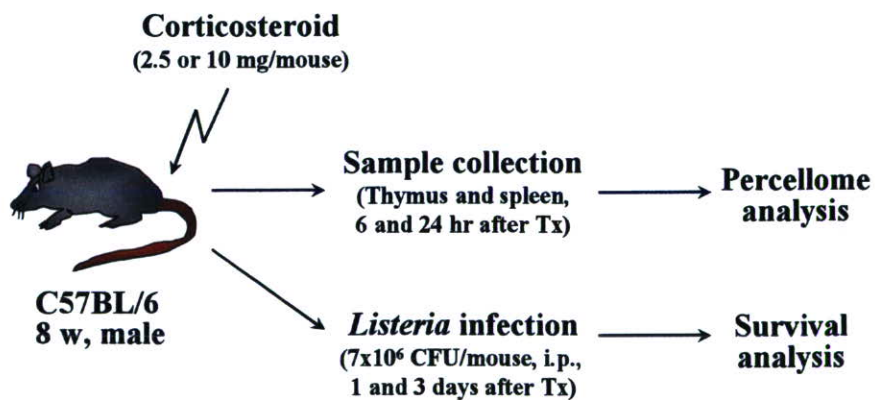
北川 昌伸、山本 浩平

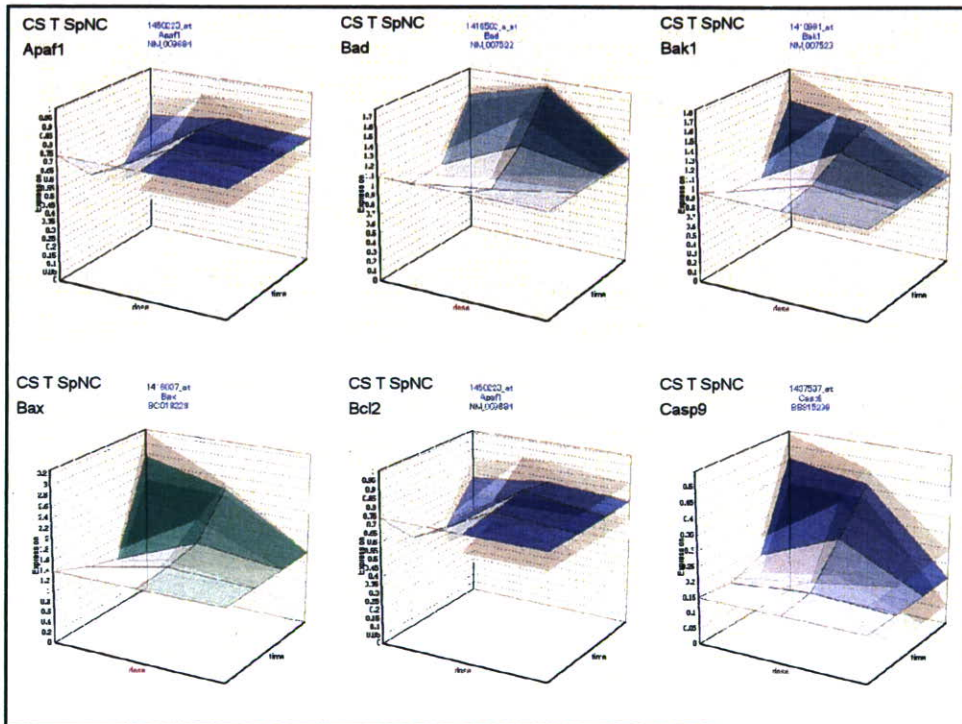
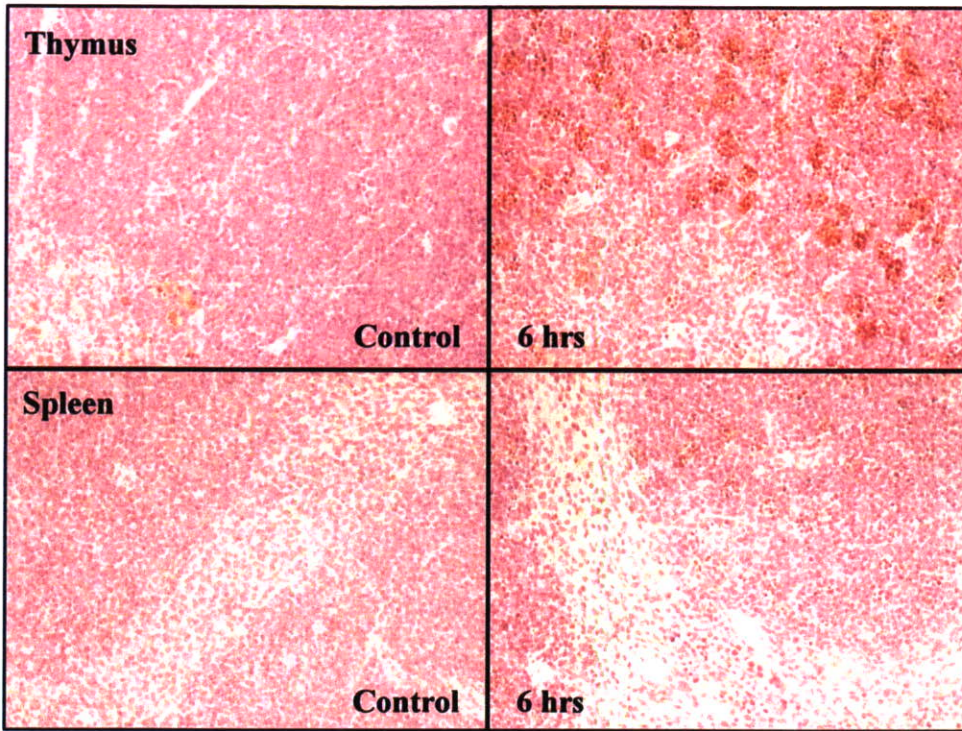
研究目的： 細菌やウイルスなどの感染に対する感受性を左右する薬剤について、宿主細胞(とくに胸腺や脾臓などの免疫系臓器)に及ぼす影響を網羅的に解析する。今回は胸腺の萎縮とT細胞の著明な減少を誘導することが知られているコルチコステロイドおよび種々の細胞に毒性を示すドキシソルビシンの投与による変化を解析する。

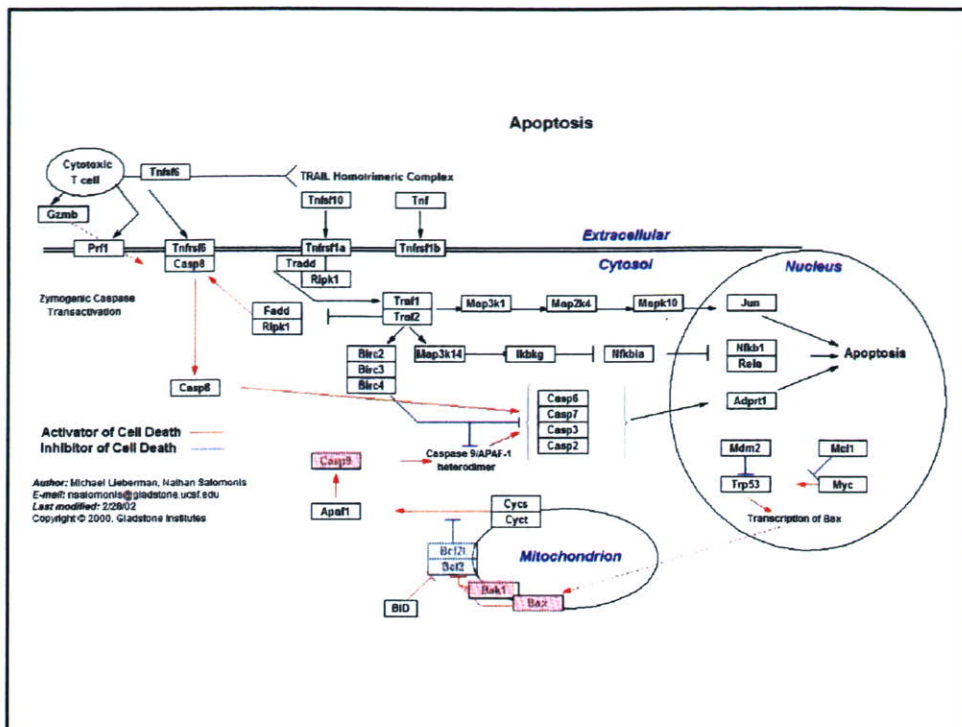
概要説明図



実験プロトコール







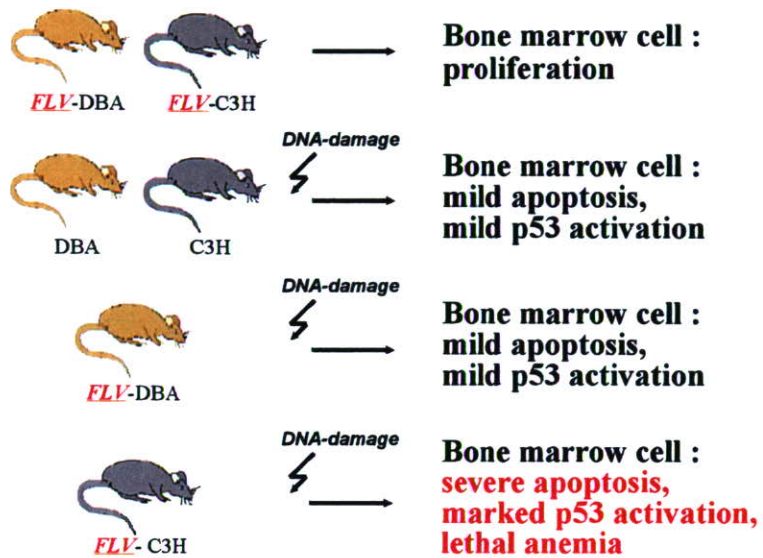
Effects of glucocorticosteroid on thymic gene expression

- T-cell differentiation
- Apoptotic induction via mitochondrial pathway

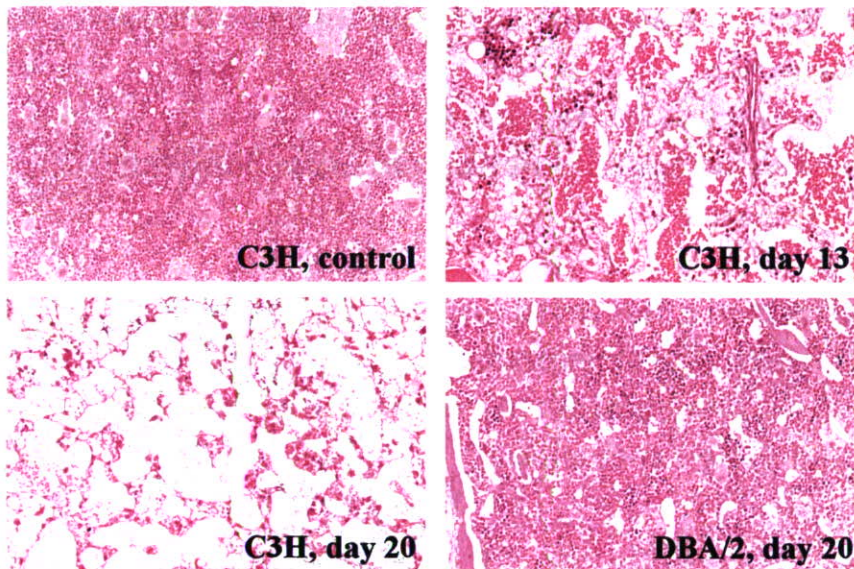
Effects of glucocorticosteroid on *Listeria*-associated gene expression

- Up-regulation of susceptibility-inducing gene expression

薬剤とウイルス感染：レトロウイルス感染による DNA-damage 誘発アポトーシスの増強

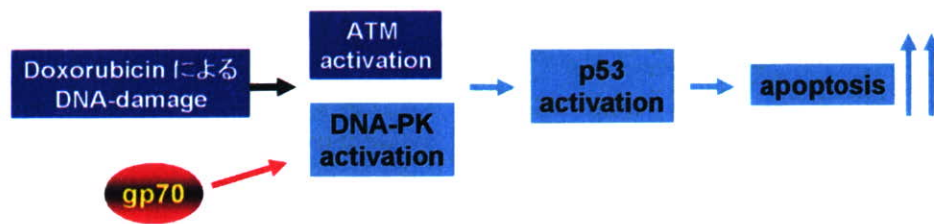


Histological features of the BM from FLV-infected and TBI-treated C3H mice and DBA/2 mice



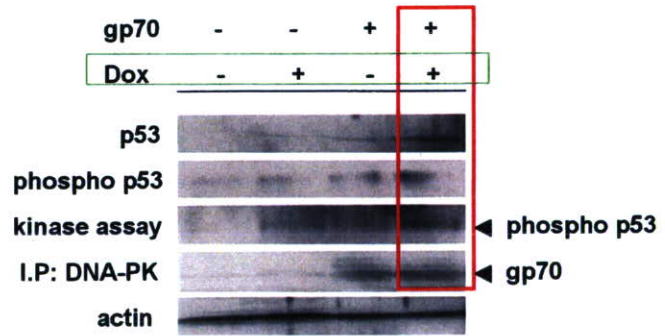
**レトロウイルス感染による DNA-damage 誘発アポトーシスの
増強: C3Hマウス特異的な現象**

- C3H - *p53* ^{-/-} mice
- C3H - *DNA-PK-deficient* mice
- C3H - *ATM* ^{-/-} mice
- C3H derived myeloid leukemia cell lines



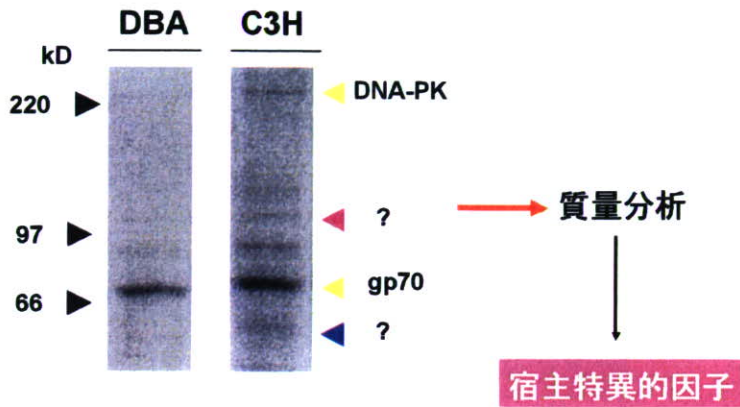
DNA damage induced by Doxorubicin

Doxorubicin works by impairing DNA synthesis, a crucial feature of cell division, and thus is able to target definite dividing cells

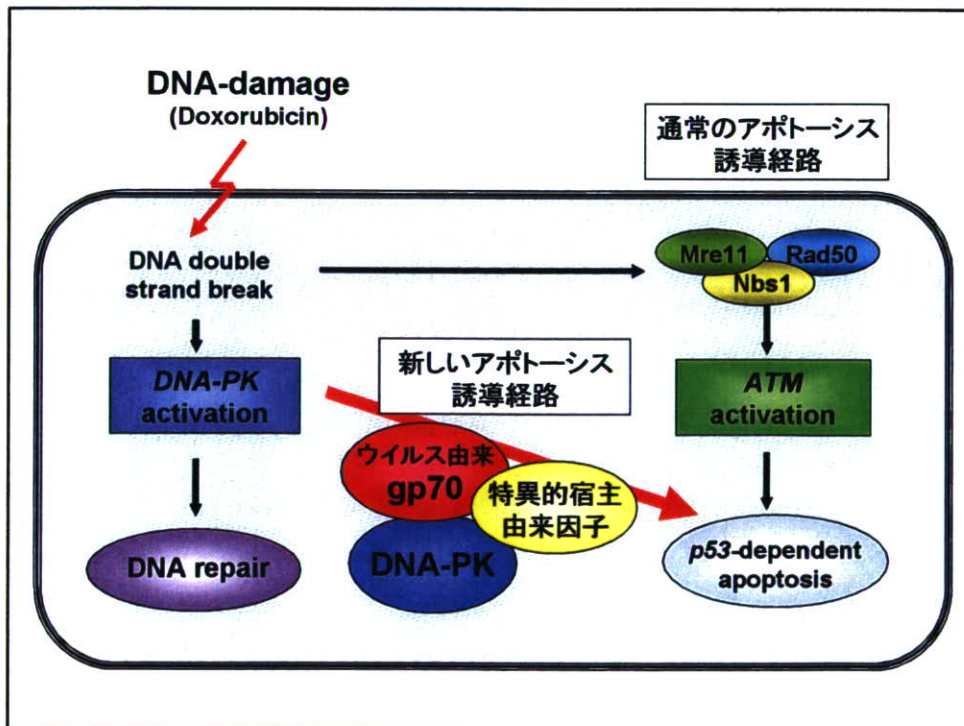


gp70は放射線以外のDNAダメージ誘導剤に対する感受性も増強する

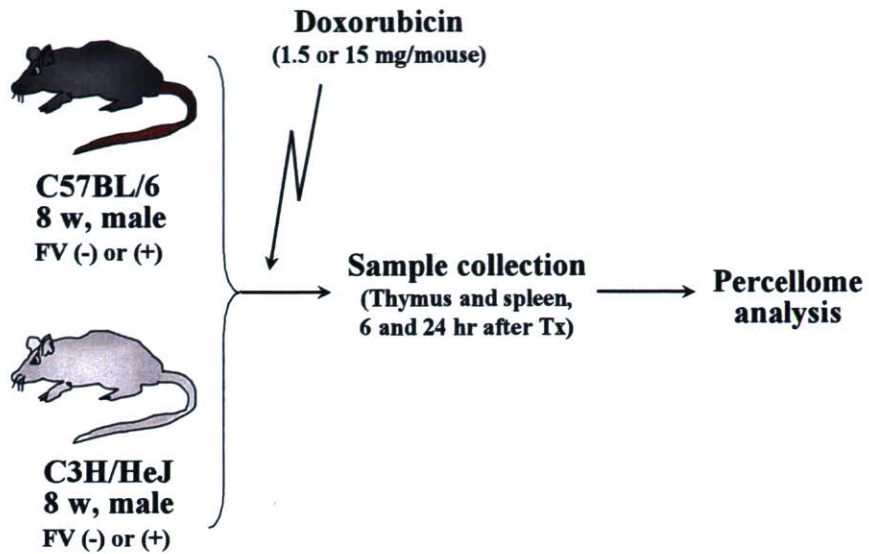
SDS-PAGE of Immunoprecipitate with α -gp70 in the BM of C3H and DBA mice



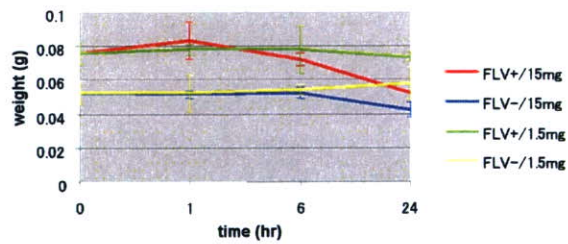
FLV+TBI後にC3Hマウス特異的にgp70に会合する因子が同定された



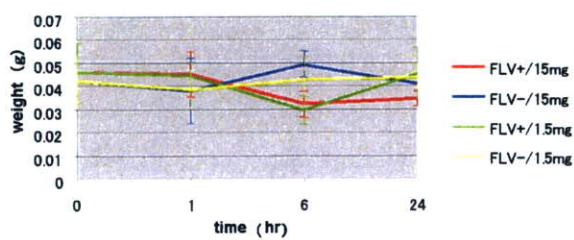
実験プロトコール



spleen weight (C57BL/6)



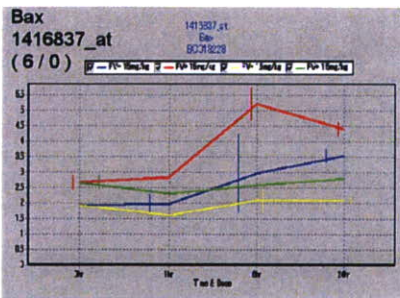
thymus weight (C57BL/6)



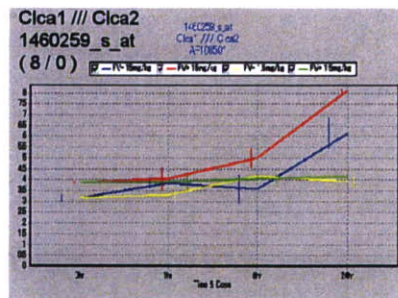
結果概要

GOカテゴリーから変化を概観した。

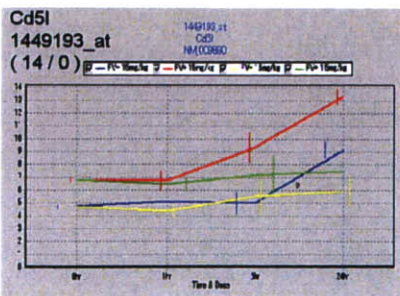
- FV+の方で発現が高い遺伝子が多い傾向。
- 脾臓で、immune response、Cell cycle (p21, Sens2等)にて上昇している遺伝子多数有り。ただし、1.5mg/kg群の反応は弱い。
- 胸腺は脾臓に比べ、発現変化した遺伝子は少ない印象。Nucleotide metabolismで多数の遺伝子の発現が低下していた。



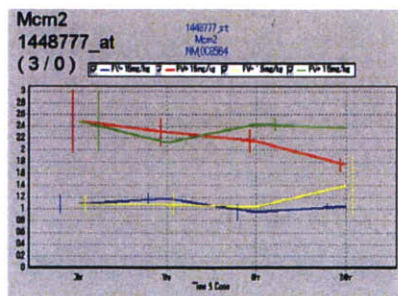
Bcl2-associated X protein



chloride channel calcium activated 1 /// chloride channel calcium activated 2



CD5 antigen-like



minichromosome maintenance deficient 2 mitotin (S. cerevisiae)

進捗状況のまとめ:

1. ステロイド投与によって胸腺は著明な萎縮を示し、10 mg/mouse 投与では 24 時間後までに重量にして約 3分の1 にまで低下し、アポトーシス細胞が著明に増加した。変化は可逆的で、約 3 日で元に復した。脾の重量もステロイド投与後 24 時間まで軽度の減少を示したが、アポトーシス細胞の比率には大きな変化は認められなかった。
2. 胸腺の遺伝子発現プロファイルは平均して 24 時間後にピークを示すものが多い傾向があった。アポトーシス関連遺伝子についてもこのような傾向を示すものが多く認められた。その他には response to biotic stimulus という類型に属する遺伝子群の発現が典型的な 24 時間後ピークを呈するパターンを示していた。脾臓については有意なあるいは特異的な動きを示さないパターンで発現変化する遺伝子が多かった。
3. ドキソルビシン投与では、特異的に脾臓の重量変化といくつかの遺伝子群の発現変化が認められた。ウイルス感染との関連、宿主遺伝的背景の影響を含めてさらに詳細な遺伝子発現検索を行う予定である。

中枢神経系に作用する薬物の骨代謝への影響に関する研究

分担研究者 池田 通

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・口腔病理学分野・教授

研究要旨

視床下部に作用する食欲抑制神経ペプチドである leptin が重要な骨代謝調節因子であることが動物実験によって明らかにされつつあるが、臨床で日常的に用いられている中枢神経系に作用する薬物が人の骨代謝に影響を及ぼすことを示唆する論文が今までにいくつか出されており、かつ自検例もあることから、こうした薬物が人においても中枢神経系を介して間接的に、もしくは直接骨組織に作用して骨代謝に介入していることが強く疑われる。本研究ではこうした薬物の骨代謝への影響を、動物への連続投与実験を通して明らかにする。

A. 研究目的

骨代謝調節の分子機構は、破骨細胞形性因子である Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa B Ligand (RANKL)の発見によって急速に明らかになりつつある。骨芽細胞が産生する RANKL を、その受容体である RANK を有する破骨細胞前駆細胞が受けることにより、多核巨細胞である破骨細胞へと分化し、さらに活性化する。また、RANK と同様に RANKL と結合することができる分子 Osteoprotegerin (OPG)が知られており、OPGは可溶性蛋白として細胞から遊離しているため RANKL と結合してもその情報を細胞に伝えないことから、RANKL による破骨細胞形成を阻害する役割を担っていると考えられている。骨代謝がこうした分子の相互作用によって調節されていることが明らかになった上、ビスホスフォネートの臨床応用によってかなり薬物による骨代謝のコントロールが可能となってきた。しかしながら、高齢社会において骨粗鬆症患者が今後激増することが予想される我が国においては、さらなる研究が望まれる。

そのような状況の中、視床下部に作用し、摂食抑制作用や性腺調節機能等を有する leptin が、交感神経刺激を介して骨芽細胞表面にある

adrenergic $\cdot 2$ 受容体に間接的に作用して骨芽細胞の増殖を抑制することが明らかにされ、中枢神経系の骨代謝調節機能が存在することがわかってきた (Cell 111, 305-317, 2002)。その後、leptin が circadian rhythm を制御する遺伝子の一つである clock 遺伝子を介して骨芽細胞の増殖に影響を及ぼすこと (Cell 122, 803-815, 2005) や、摂食抑制作用のある神経ペプチドである neuromedin U に骨芽細胞増殖抑制作用があることが示され (Nature Medicine 13, 1234-1240, 2007)、中枢神経系による骨芽細胞増殖調節機構の研究にも新たな展開が見えてきた。

一方、骨吸収をつかさどる破骨細胞に対しては、大麻の薬効成分である cannabinoid に対する受容体を經由したシグナルが破骨細胞形成に重要な影響を与えているという報告がなされ (Nature Medicine 11, 774-779, 2005)、破骨細胞に cannabinoid 受容体が存在することが示されるとともに、leptin によって発現が制御される神経ペプチドである cocaine amphetamine regulated transcript が破骨細胞形成に影響を及ぼすことが示唆され (Nature 434, 514-520, 2005)、中枢神経系に骨代謝全体を制御する機構が存在することがほぼ明らかとなった。

人に対する作用で上記に関連があると思われる過去の報告を調べると、報告は少ない上結果にもばらつきがあるものの、中枢神経系に作用する薬物が骨代謝に影響を及ぼすことを示唆する論文がいくつか出されており、日常の臨床で使用されている中枢神経系に作用する薬物にも、直接または間接的に骨組織に作用して骨代謝に介入しているものが存在することが強く疑われた。さらに、中枢神経系に作用する薬物の投与を受けていた患者で受傷後に異常な化骨誘導が認められた複数の自験例があったため調査した結果、ベンゾジアゼピン系の alprazolam、チエノジアゼピン系の etizolam、ベンズアミド系の sulpiride 等が関与している可能性が疑われた。実際これらの薬物が骨代謝に影響を及ぼすことを示唆する臨床論文も少数ながらいくつかあることがわかった(Epilepsy and Behavior 5, S24-S29, 2004; Pharmacological Research 50, 93-97, 2004; Archives of Internal Medicine 164, 1567-1572, 2004)。これらの薬物の骨代謝への副作用はまだ問題視されていないが、ある期間連続投与される可能性が高い薬物でもあり、患者に無視できない影響を及ぼしている可能性がある。また、これらの薬物が leptin に対してどのように作用するか未だ報告がない上、leptin による交感神経を介した骨代謝調節機構も未だ全容は研究過程にあって不明な点が多く、今後早急に研究が進展して行くと予想される。本研究では、臨床で日常的に用いられているこうした薬物を動物に連続投与する実験を通して、その骨代謝への作用機序を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

昨年度の予備実験の結果を参考にし、化骨に促進的な作用があると疑われた 2 種類の薬物を用いて実験を行った。alprazolam [ベンゾジアゼピン系] (30・g, 120・g/kg) および sodium valproate [バルプロ酸ナトリウム系] (20mg, 80mg/kg) の各

薬物を 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁したものを所定濃度になるように蒸留水に希釈し(メチルセルロースの最終濃度はいずれも 0.005%になるよう統一)、生後 8 週齢メス Wistar 系ラット(1 群 8 匹)に、ゾンデにより連日経口投与した。投与量は一般的な人体への投与量を各動物の体重に換算したものを基準とし、その他に 4 倍量(人体における 1 日投与量の極量)を投与量として設定した。また対照として、薬物を除いて同様に調製したものを連続経口投与した。

連日経口投与開始 1 週間後にケタラール 5・セラクタール 1 混合液を 60mg/kg 腹腔内注射してラット及びマウスを麻酔した上、歯科用電気エンジンを使用してラット右側脛骨の骨幹部を 1カ所水平に切断し、骨髓腔にワイヤーを貫通させることによる髄内釘骨固定を施した後、術創を縫合した。手術後も各薬物を連日経口投与した。術後 1 週ごと 4 週後まで動物の骨折部位の X 線写真を撮影した後、動物を安楽死処置し、手術部位の骨組織を採取した。なお、安楽死処置の 4 日前および前日に calcein (8mg/ml) を 1ml/kg 量腹腔内に投与し、骨の標識を行った。採取した骨組織は固定後に樹脂包埋し、非脱灰骨組織標本を作製した。

次に、遺伝子発現の解析をする目的でマウスを用いた実験を行った。生後 5 週齢メス C57BL/6 系マウスを用いて上記のラットと同様の実験を行い、手術部位を組織標本用に切除するとともに、頭蓋冠、全脳、大腿骨を切除して Trizol®液を用いて RNA を抽出した。倫理面への配慮として、本実験は長崎大学学長の承認を受けた後、長崎大学の定める規定に従って実施した。

C. 研究結果

【一般所見】

各薬物を投与したことによる急性毒性、顕著な行動変化等は認められなかった。また、骨折手術

創の治癒経過の肉眼所見に薬物投与による差は認められなかった。

【X線写真所見】

X線写真所見では、術後1週目では各薬物を投与した動物および対照となる薬物非投与群の動物において、顕著な化骨反応はまだ認められなかった。

骨折部位の化骨反応は術後2週目から認められたが、すでにこの段階で、対照と比較して alprazolam, sodium valproate 投与動物において化骨の促進が強く疑われる所見が得られた。術後3週目より新生化骨の再構築反応が明らかに見られはじめ、化骨断端が丸みを帯びて来るのが確認された。術後4週目には、各薬物を投与した動物および対照の動物において骨折部位はおおむね癒合したと判断された。4週目の時点においてX線写真上で顕著な骨の過剰形成が認められたのは alprazolam を高濃度で投与されたラット2匹であり、発生率は25%であった。

【組織所見】

骨折部位の治癒は主として軟骨内骨化によって起こり、軟骨内骨化は骨折部位にとどまらず、髄内釘に沿って進行していることが確認された。alprazolam 高濃度投与群でX線写真上顕著な化骨反応が認められたものは、組織学的には骨折部位の盛り上がり大きいものの、薬物非投与群でも盛り上がり目立つ個体もあり、個体間のばらつきを考慮するとさらに別の指標を用いて裏付ける必要があると考えられた。そこで、皮質骨に注目したところ、薬物投与群では、非投与群と比較して皮質骨の肥厚が顕著であり、多いものでは当初の2倍以上の厚みで、しかも骨折部位からかなり離れた部位まで新生皮質骨の過剰添加が認められた。この皮質骨の肥厚は、alprazolam を高濃度に投与した群で最も顕著に認められた。なお、対照の薬物非投与群では、肥厚が平均1.3倍程度

であった。また、骨折部位以外の骨組織には顕微鏡観察をした限りでは薬物投与群と非投与群との間に顕著な差は見いだされなかった。

【遺伝子解析】

マウスの実験では、骨組織の所見は現在標準作成中であるため詳細は不明であるが、alprazolam を高濃度に投与したマウス1匹にX線写真上で顕著な骨の過剰形成が認められた。マウスの健側大腿骨からRNAを抽出し、骨外細胞の分化マーカーである osteocalcin 及び alkaline phosphatase の発現を Northern hybridization で確認したところ、薬物投与群と対照群との間に発現量の差は認められなかった。また、全脳及び頭蓋冠のRNAは抽出後、そのまま凍結保存した。

D. 考察

今回の実験で使用した薬物 alprazolam, 及び sodium valproate が骨代謝に影響を及ぼすことを示唆する報告が少数見られるが、いずれも人における長期投与例で骨量の減少が認められたという単発的な報告にとどまり、これらの薬物が骨代謝にどのように影響を及ぼしているかについて、詳細は全く不明である。

今回の動物実験では一部の薬物投与動物における骨折部位の化骨反応の亢進及び、ほとんどの薬物投与動物における皮質骨の肥厚反応が確認された。このことは、これらの薬物投与によって軟骨内骨化よりも膜性骨化により強い骨形成促進作用があることが示唆されるとともに、骨折等の何らかの刺激に対して骨芽細胞が反応を起こすときに大きな変化が認められ、正常部位には顕著な変化が見られない可能性があることが示唆された。現在非常に注目されている leptin による骨芽細胞増殖調節機構は、骨芽細胞の分化には影響がないと考えられている (Cell 111, 305-317, 2002)。また、詳細は不明であるものの、軟骨内骨化をきたす海綿骨部位と膜性骨化をきたす皮質骨部位に

leptinの影響による差はなく、leptinが骨組織全体に均等に影響を及ぼすことが疑われている (Nature Medicine 13, 1234-1240, 2007)。今回の結果で alprazolam や sodium valproate の投与によっても大腿骨の骨芽細胞の分化マーカーになんら変化が見られなかったことから、これらの薬物が骨芽細胞の分化よりは、骨芽細胞の増殖に影響を及ぼしていることが示唆された。一方で、今回の実験では正常の骨組織での変化が見られないが、手術部位及びその周囲では特に皮質骨で強い骨添加反応が見られた。以上結果から、これらの薬物による骨代謝調節が leptin を介したものとそれ以外の未知の機構によるものが混在している可能性も疑われた。

これら薬物によって化骨が促進されるという今回の動物実験結果は、これらいずれかの薬物投与を受けた患者の骨量が減少するという人における過去の報告とは異なるが、この違いの原因は今のところ不明である。人においては通常1日3回経口投与されるこれらの薬物を、1日1回投与している点の違いが、実験全体にどのような影響を及ぼしているか、投与期間の違いでどのような影響があるか等、今後検討する必要があると思われる。しかし、対照を含めて同一条件で行った実験であることから、alprazolam 及び sodium valproate が骨代謝に何らかの影響を及ぼした結果、化骨反応が亢進したことにほぼ間違いないと判断された。

今後マウスの実験群の組織標本作成を進め、かつ、ラット及びマウス骨組織標本の骨形態計測解析を進め、薬物投与による骨代謝への影響の全容を明らかにする予定である。また、現在非常に注目されている摂食抑制作用タンパク leptin に関連した分子を含め、alprazolam 及び sodium valproate による骨組織及び中枢神経組織での遺伝子発現変化を解析する予定である。

E. 結論

中枢神経系に作用する薬物のうち、alprazolam 及び sodium valproate が骨代謝に影響を及ぼすことが強く示唆された。本研究を推進することで、現在非常に注目されている中枢神経系による骨代謝調節機構がさらに詳細に明らかにできると期待されるとともに、日常の臨床で使用されているこれらの薬物による人の骨代謝への影響を明らかにすることができるかと期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

Okuda T, Ioku K, Yonezawa I, Minagi H, Kawachi G, Gonda Y, Murayama H, Shibata Y, Minami S, Kamihira S, Kurosawa H, Ikeda T: The effect of the microstructure of β -tricalcium phosphate on the metabolism of subsequently formed bone tissue. *Biomaterials* 28: 2612-22621, 2007.

Jimbo R, Sawase T, Shibata Y, Hirata K, Hishikawa Y, Tanaka Y, Bessho K, Ikeda T, Atsuta M: Enhanced osseointegration by the chemotactic activity of plasma fibronectin for cellular fibronectin positive cells. *Biomaterials* 28:3469-3477, 2007.

Yamada S, Yanamoto S, Kawasaki G, Mizuno A, Fujita S, Ikeda T: Intraductal papilloma of the buccal mucosa salivary gland. *Asian J Oral Maxillofac Surg* 19: 113-117, 2007.

2. 学会発表

Ikeda T, Gonda Y, Ioku K, Okuda T, Kawachi G, Yonezawa I, Kurosawa H: Application of newly developed globular-shaped granules of β -tricalcium phosphate for bone substitute, *Bioceramics* 20, Nantes, France, Oct. 26, 2007 {Program #T-136, 2007}

Ioku K, Kamitakahara M, Kawachi G, Gonda Y, Okuda T, Yonezawa I, Kurosawa H, Ikeda T: Microstructure designing of porous β -tricalcium phosphate for control of reactions in the bone, Bioceramics 20, Nantes, France, 2007 {Program #T-49, 2007}

奥田貴俊, 井奥洪二, 米澤郁穂, 権田芳範, 柴田恭明, 黒澤 尚, 池田 通: 骨代替材料の吸収性と新生骨形成の関係に対する評価, 第25回日本骨代謝学会学術集会, 大阪, 7月 {抄録集 演題番号P1-63, p.254, 2007}

権田芳範, 奥田貴俊, 井奥洪二, 米澤郁穂, 黒澤 尚, 柴田恭明, 池田 通: 微細柱状粒子 β -リン酸三カルシウム球状顆粒の開発と骨代替材料としての評価, 第25回日本骨代謝学会学術集会, 大阪, 7月 {抄録集 演題番号P1-67, p.256, 2007}

奥田貴俊, 井奥洪二, 権田芳範, 米澤郁穂, 黒澤 尚, 池田 通: 柱状粒子ハイドロキシアパタイトからなる新しい骨代替材料の開発と評価, 第22回日本整形外科学会基礎学術集会, 浜松, 10月 {抄録集 演題番号1-Pg-5, p.S991, 2007}

G. 知的財産所有権の出願・登録状況(予定も含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

【背景】

精神科に通院する患者の骨密度や骨折治癒に異常があることが多い傾向を感じている臨床医が少なからず存在し、投与薬物による副作用が疑われるが、世界的に見ても系統だった研究はほとんどなされていない。

そのような状況の中、視床下部に作用し、摂食抑制作用や性腺調節機能等を有するleptinが、交感神経刺激を介して骨芽細胞表面にあるadrenergic β 2受容体に作用して間接的に骨芽細胞の増殖を抑制することが明らかにされ、中枢神経系の骨代謝調節機能が存在することがわかってきた(Cell 111, 305-317, 2002)。

【背景】

一方、破骨細胞への影響については2005年にcannabinoidが骨代謝(破骨細胞形成)に影響を及ぼすという論文が報告されている。

Leptinの骨代謝調節機能の発見によって中枢神経系による骨代謝調節機構について関心が高まっているが、全体的な傾向としては未だ限られた情報しか得られておらず、未開拓領域の一つであると言える。

中枢神経系に作用する薬物の内、骨代謝に影響を及ぼすと疑われる薬物はいくつかあげられるが、いずれも骨組織への副作用に関する記載はなく、シンプルな動物実験系での確認とメカニズムの解明が必要であると考えられる。

骨代謝に影響を及ぼす可能性がある中枢神経系に作用する主な薬物

【Phenitoin, phenobarbital, primidone】

Cytochrome P450 inhibitors

骨密度の減少や大腿骨頸部骨折のリスクの増加等の報告

機序: 肝臓における活性型ビタミンDの不活化亢進による低カルシウム血症による副甲状腺機能亢進

【Valproate】

Cytochrome P450 inhibitor, Histone deacetylase inhibitor

骨密度の減少等の報告、骨芽細胞の分化を促進するという報告

機序: 詳細は不明

【Benzodiazepine】

GABAの増強作用

大腿骨頸部骨折のリスクの増大

機序: 詳細は不明

【Benzamide】

Dopamine receptor antagonist

骨吸収の抑制効果

機序: 詳細は不明 Cathepsin Kの抑制が関与?

【方法】

[薬物調製]

- 化骨に促進的な作用があると疑われた2種類の薬物、Alprazolam[ベンゾジアゼピン系] (和光純薬) および Sodium valproate[バルプロ酸ナトリウム系] (和光純薬 (和光純薬) の各薬物を0.5%メチルセルロース400水溶液とともにメノウ乳鉢で擦って懸濁液を作成
- 懸濁液を蒸留水で所定の濃度まで希釈(メチルセルロース400の最終濃度は0.005%になるように統一)
- 対照用として薬物を入れないメチルセルロース0.005%水溶液を調製

【方法】

[動物実験]

- 8週齢メスWistar系ラット(1群8匹)にAlprazolam (30 μ g/kg, 120 μ g/kg)または Sodium valproate (20 mg/kg, 80 mg/kg) または薬物を含まない投与液を連日1週間連続経口投与
- 6週齢メスC57/BL6系マウス(1群8匹)にAlprazolam (120 μ g/kg, 360 μ g/kg) または薬物を含まない投与液を連日1週間連続経口投与
- 脛骨骨折手術の実施(髄内釘による固定)
- 上記各薬物を連日3週間連続経口投与
- X線写真撮影後、標本採取、非脱灰骨組織切片を作成
- マウス骨組織からRNAを抽出し、Northern hybridization解析

