京都大学	博士（医学）	氏　名	白　井　孝　昭
論文題目	Chondroprotective effect of Alendronate in a rabbit model of osteoarthritis （アレンドロネートは家兎変形性膝関節症モデルにおいて軟骨保護作用を有す）		

（論文内容の要旨）

変形性膝関節症（ＯＡ）は様々な要因から起こる進行性の疾患であり、高齢者の多数が罹患し今後さらに増加すると見込まれる。ＯＡの危険因子として、加齢、女性、肥満、などが知られており、治療としては初期では運動療法、薬物療法が多く、末期になると手術療法も選択される。一方骨粗鬆症も高齢者の活動性の低下や、寝たきりの主要因であり、骨粗鬆症による骨折を予防することが、高齢者のADLを低下させないために重要とされている。骨粗鬆症の治療として、食事療法、運動療法、薬物療法が一般的に行われているが、近年アレンドロネート（ＡＬＮ）などのビスフォスフォネート製剤が骨粗鬆症による骨折のリスクを直接的に減少させた、として注目されている。ともに中高年層が罹患するＯＡと骨粗鬆症であるが、最近ＯＡに対するＡＬＮの効果について臨床使用した報告が散見される。しかし、その効果は様々で議論が続いている。そこで今回、家兎ＯＡモデルを用いてＡＬＮの関節軟骨や軟骨下骨に対する作用を検証し、ＡＬＮのＯＡ治療薬としての可能性を追求した。

30羽の日本白色家兎に対し、左膝は前十字靭帯を切離して実験的ＯＡを作成し、右膝はsham手術を施行した。15羽に対して手術直後よりＡＬＮ(0.14mg/kg) を週1回皮下注し、残りの15羽に対しては生理食塩水(生食)を同様に皮下注し、実験終了まで続けた。それぞれ５羽ずつ、術後２週、４週、12週で屠殺した。まずＡＬＮの効果を確かめるため、軟骨下骨の骨量と厚さをマイクロＣＴを用いて評価し、組織切片においてTRAP染色で破骨細胞の抑制の有無を評価した。続いて、膝関節軟骨はHE染色、Safranin-O染色にて組織学的観察でスコアリングを行った。また膝関節周囲の骨棘についても評価した。さらに、軟骨層においてマトリックスメタロプロテアーゼ13（MMP13）やX型コラーゲン（COLX)、インターロイキン1-β（IL1-β)、血管内皮細胞増殖因子（VEGF)、Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa B Ligand（RANKL)などのＯＡ変化に関連する蛋白の発現検索を免疫染色にて行った。

術後12週で、軟骨下骨の骨量は、ＯＡ膝で減少していたが、ＡＬＮ投与により増加していた。軟骨下骨の厚さについては差がなかった。ＴＲＡＰ染色において、ＡＬＮ投与により破骨細胞数が減少していた。ＡＬＮの骨に対する効果が確かめたのち膝軟骨の評価を行うと、術後12週でＯＡ膝では明らかな軟骨損傷が認められたが、ＡＬＮ投与によりＯＡの進行は緩やかに抑制されていた。また関節周囲の骨棘についてもＡＬＮ投与で減少傾向にあった。免疫染色では、軟骨層においてMMP13やCOLX、IL1-β、VEGF、RANKLの発現がＡＬＮ投与により抑制されており、そのなかでRANKLについては石灰化軟骨層においてもＡＬＮ投与により発現抑制されていた。

ＡＬＮ投与により実験的ＯＡにおける軟骨保護作用が認められた。ＡＬＮが軟骨細胞に直接働きかける作用はほとんどないと報告されている。ゆえに、ＡＬＮのＯＡに対する抑制の機序として、軟骨下骨の骨量増加により軟骨に対する機械的ストレスが軽減されたことがあげられ、さらにＯＡ進行に関与するchemical mediatorの発現が抑制され軟骨変性の進行が緩やかになったことも考えられる。本研究から、ＯＡの初期においてＡＬＮ投与によりＯＡ進行が抑制できる可能性があることが示唆された。

（論文審査の結果の要旨）

変形性膝関節症（以下 OA）における軟骨下骨の役割についてその重要性が認識されつつある。骨粗鬆症の治療薬として知られるアレンドロネート（以下ALN）のOAに対する効果は議論が続いており、その作用機序については充分には解明されていない。家兎を用いて実験的OAモデルを作成し、ALNのOAに対する効果とその作用機序を解明する研究を行った。その結果、ALN投与はOA進行に伴う軟骨下骨の骨量減少を抑制し、さらに軟骨下骨における破骨細胞活性を抑制した。そして、膝関節の肉眼的、組織学的観察においてALN投与による軟骨保護作用が認められ、OAの進行が抑制されていた。また、免疫学的検索にてOA関連因子であるマトリックスメタロプロテアーゼ13、インターロイキン1-β、X型コラーゲン、血管内皮細胞増殖因子、receptor activator of nuclear factor κB ligandの軟骨層における発現がALN投与により抑制されていることを確認した。これらの結果は、ALNが軟骨下骨の骨量を維持して軟骨に対する機械的ストレスを減少させる作用とともに、軟骨層におけるOA進行に寄与する因子の発現を抑制する作用を合わせて軟骨を保護したことを示している。

以上の研究はOAにおけるALNの軟骨保護作用のメカニズムの解明に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成２３年３月８日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日：　　年　　月　　日　以降