

二次性副甲状腺機能亢進症治療薬が骨の構造と強度を改善

～慢性腎不全動物モデルを用いた検証で明らかに～

ポイント

- ・慢性腎不全に伴う二次性副甲状腺機能亢進症の骨病態（皮質骨多孔化）の発症メカニズムを解明。
- ・エボカルセトを投与したラットでは、皮質骨多孔化が抑制され、骨強度が著明に改善。
- ・二次性副甲状腺機能亢進症患者の骨病態に対するエボカルセトの作用検証が期待。

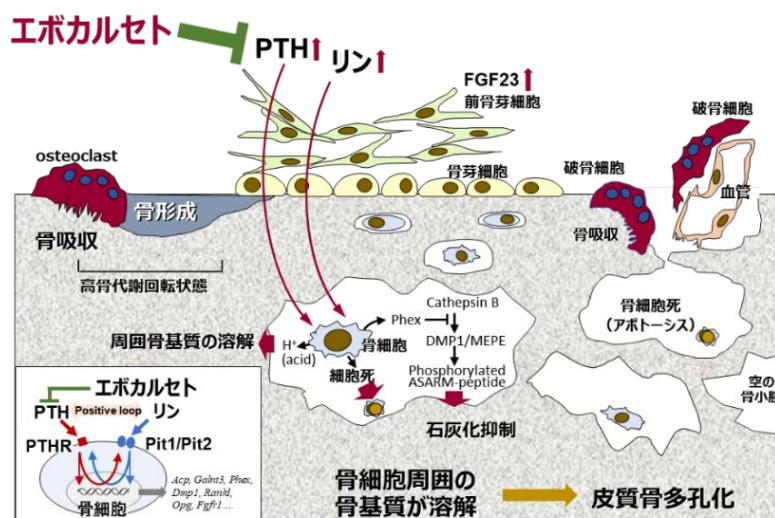
概要

北海道大学大学院歯学研究院の長谷川智香准教授、網塚憲生教授らの研究グループは、協和キリン株式会社との共同研究により、同社が開発したカルシウム受容体作動薬エボカルセトが、慢性腎不全に伴う二次性副甲状腺機能亢進症（CKD-SHPT）モデル動物で生じる骨病態を改善させることを明らかにしました。

腎臓が障害を受けると、血液中のカルシウムやリンなどのミネラルバランスが崩れます。CKD-SHPTでは、血中のミネラルバランスを調節する副甲状腺ホルモン（PTH）が過剰に産生され、これらが骨にも影響を及ぼし、骨の吸収と形成を活発にさせます。さらに、骨の塊である皮質骨に沢山の空隙を作り（皮質骨多孔化）、骨の強度を低下させるため骨折しやすくなります。

本研究において、CKD-SHPTラットでは、血中に多量に存在するPTHとリンが相加的に作用することで、皮質骨に埋め込まれた骨細胞の異常や細胞死を誘導し、周囲の骨を溶解すること、また、これを起点として皮質骨多孔化が生じることが明らかになりました。これに伴い、骨強度の低下が認められました。一方、エボカルセトを投与したラットでは、皮質骨多孔化が抑制され、骨強度が著明に改善していました。このことから、エボカルセトは、血中のPTH濃度を低下させることで、PTHとリンの相加作用を断ち切り、CKD-SHPTラットの骨病態を抑制する可能性が示されました。

なお、本研究成果は2023年1月31日（火）公開のEndocrinology誌にオンライン掲載されました。



本研究成果から想定される、二次性副甲状腺機能亢進症モデル動物でみられる骨病態の発症メカニズムと、カルシウム受容体作動薬エボカルセトによる骨病態改善作用の機序。

【背景】

腎臓は、血液をろ過し、尿を産生することで、体から老廃物を除去する臓器です。一方で、血液中のカルシウムやリンなどのミネラル濃度の調節も行っています。そのため、腎臓が悪くなると、血液中のカルシウムやリン濃度の調節機能も障害を受け、血中のミネラルバランスが崩れてしまいます（慢性腎不全に伴う骨・ミネラル代謝異常：CKD-MBD）。すると、この状態を改善するために、副甲状腺細胞が肥大・増殖して、血中カルシウム・リン濃度を調節するホルモン（副甲状腺ホルモン：PTH）を大量に産生しはじめます（二次性副甲状腺機能亢進症：SHPT）。過剰に産生された PTH は、リン酸カルシウム結晶を含む硬い骨を壊して、そこから多量のカルシウム・リンを遊離させることで、血中のカルシウム・リン濃度を維持します。一方で、壊された骨は脆くなってしまう（骨強度が低下する）ため、寝たきりにもつながる骨折リスクが上昇してしまいます。

SHPT で生じる骨の異常は、単純に骨の量や骨密度が減少するのではなく、1) 細い梁状の骨（海綿骨）が活発に骨改造（骨の吸収と形成による作り替え）を受け、増加すること（線維性骨症）、2) 体を支える厚い骨（皮質骨）が孔だらけになること（皮質骨多孔化）が分かっています。しかし、主に骨強度低下に起因する皮質骨多孔化の発症メカニズムは解明されておらず、その治療法も不明なままです。

現在、腎機能が著しく低下し、人工透析に移行した SHPT 患者さんには、過剰な PTH 分泌を抑制するカルシウム受容体作動薬が用いられています。カルシウム受容体作動薬であるエボカルセトは、血中 PTH 濃度を低下させますが、骨病態に対する改善効果はよく分かっていません。このことから、本研究では、慢性腎不全に伴う二次性副甲状腺機能亢進症（CKD-SHPT）における骨の異常、特に、皮質骨多孔化の発症メカニズム解明と、骨病態に対するエボカルセトの効果を明らかにすることを目的として、CKD-SHPT モデル動物を用いた解析を行いました。

【研究手法】

ラットの腎臓を部分的に切除し、高リン濃度の餌を与えて飼育することで、CKD-SHPT を誘導しました。その CKD-SHPT ラットに、エボカルセトまたは溶媒（比較対象となる溶液）を 6 週間投与した後、血液や大腿骨（太ももの骨）、脛骨（すねの骨）を採取して、血中カルシウムやリン、PTH 濃度の変化や骨病態への影響を比較検証しました。骨病態は、X 線マイクロ CT や各種組織化学的手法を用いた微細構造解析や二重エネルギー X 線吸収測定法による骨密度測定、骨力学強度測定のほか、real-time PCR 法・RNA-seq を用いた遺伝子発現変動解析を行いました。

【研究成果】

本研究の結果、溶媒を投与した CKD-SHPT ラットでは、血液中の PTH やリン濃度の上昇とカルシウム濃度の低下が生じるとともに、大腿骨海綿骨量の増加や皮質骨多孔化が認められ、骨強度が著しく低下していました。一方、これらの病態は、エボカルセトを投与した CKD-SHPT ラットでは、明らかに抑制されていました（図 1）。

皮質骨に注目すると、正常ラットでは骨の中に多数の生きた細胞（骨細胞）が埋め込まれており、骨細胞の周囲にはリン酸カルシウム結晶が沈着し硬くなった骨基質が存在していました。骨細胞は、蛋白質分解酵素である Phex や SIBLING family 蛋白を発現し、周囲骨基質の石灰化（骨にリン酸カルシウム結晶が沈着して硬くなる現象）を調節しています。ところが、溶媒を投与した CKD-SHPT ラットでは、骨細胞が酸分泌関連因子を産生しており、骨細胞周囲の骨が溶かされていました（骨細胞性骨溶解、図 2）。また、Phex や SIBLING family の発現変化が生じ、骨の再石灰化が抑制されているほか、死んだ骨細胞の数も増加していました。このことから、CKD-SHPT では、骨細胞の機能異常や骨

細胞死により、周囲骨基質の溶解が生じる一方、再石灰化は抑制されること、また、これが起点となり、皮質骨の多孔化が進行すると考えられました。

一方、エボカルセトを CKD-SHPT ラットに投与すると、骨細胞の機能異常や骨細胞死、骨の石灰化が改善され、皮質骨多孔化が抑制されました。このような骨細胞の機能異常や骨細胞死を誘導する原因を突き止めるため、骨細胞のみを培養皿に取り出し、リンや PTH などを添加して育てる *in vitro**¹ 実験を行ったところ、骨細胞の機能異常は、PTH やリン単独でも誘導されましたが、PTH とリンを両方添加するパターンでは、異常がより増悪していました。

以上のことから、本研究により、慢性腎不全に伴う二次性副甲状腺機能亢進症では、血液中の過剰に存在する PTH とリンが相加的に作用することで骨細胞の機能や生存に影響を及ぼし、皮質骨多孔化が誘導される可能性が示されました。また、カルシウム受容体作動薬であるエボカルセトは、血中 PTH 濃度を低下させることで、PTH とリンの相加作用を断ち切り、皮質骨多孔化を抑制する可能性が明らかになりました。

【今後への期待】

今回の病態モデル動物を用いた研究結果から、慢性腎不全に伴う二次性副甲状腺機能亢進症における骨病態の発症メカニズムが明らかになるとともに、カルシウム受容体作動薬であるエボカルセトが骨病態の改善にも寄与することが分かりました。今後、二次性副甲状腺機能亢進症患者さんを対象とした本薬剤の作用検証が期待されます。

論文情報

論文名	Evocalcet Rescues Secondary Hyperparathyroidism-driven Cortical Porosity in CKD Male Rats (エボカルセトは慢性腎不全ラットで誘導された二次性副甲状腺機能亢進症に伴う皮質骨多孔化を抑制する)
著者名	長谷川智香 ¹ 、徳永 紳 ^{2,3} 、山本知真也 ¹ 、酒井まり子 ³ 、本郷裕美 ¹ 、川田剛央 ² 、網塚憲生 ¹ (¹ 北海道大学大学院歯学研究院 口腔健康科学分野 硬組織発生生物学教室、 ² 協和キリン株式会社 メディカルアフェアーズ部、 ³ 協和キリン株式会社 研究開発本部 疾患サイエンス第1研究所)
雑誌名	Endocrinology (米国内分泌学会が発行する内分泌学の専門誌)
DOI	10.1210/endo/bqad022
公表日	2023年1月31日(火)(オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学大学院歯学研究院 准教授 長谷川智香 (はせがわともか)

T E L 011-706-4226 F A X 011-706-4226 メール hasegawa@den.hokudai.ac.jp

U R L https://www.den.hokudai.ac.jp/anatomy2/hokudai_d/index.html

配信元

北海道大学社会共創部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北8条西5丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

【参考図】

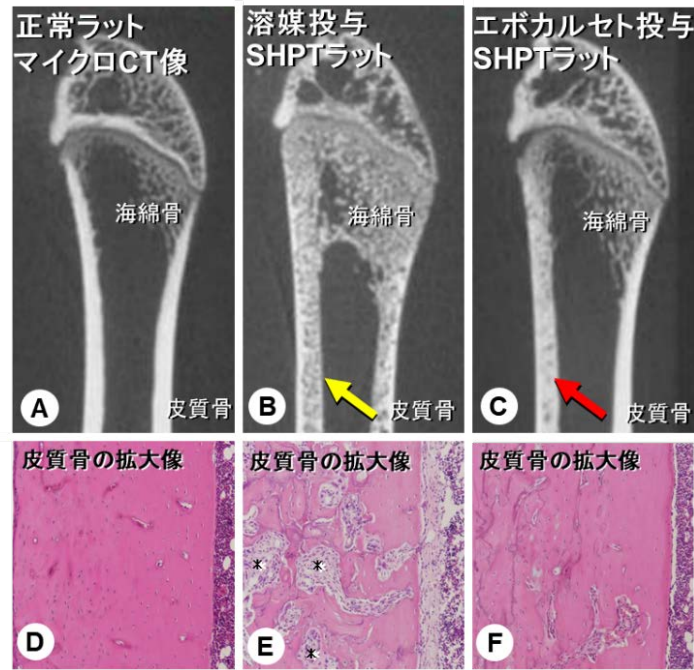


図 1. 正常ラットと溶媒/エポカルセト投与二次性副甲状腺機能亢進症 (SHPT) ラット大腿骨 (太ももの骨) のマイクロ CT 像 (A-C) と皮質骨の組織像 (D-F)
 溶媒を投与した SHPT ラット大腿骨 (B) では、正常ラット (A) に比較して、海綿骨量が増加するとともに、皮質骨に多数の孔 (黄色矢印) が認められる (白い部分が骨、黒い部分は軟組織など)。一方、エポカルセト投与 SHPT ラットでは、このような骨病態が抑制されている (赤色矢印、C)。皮質骨の組織像からも、溶媒投与 SHPT ラットで多数の孔 (*の部分) が出現し (E)、エポカルセト投与でこれらが減少していることが分かる (F)。

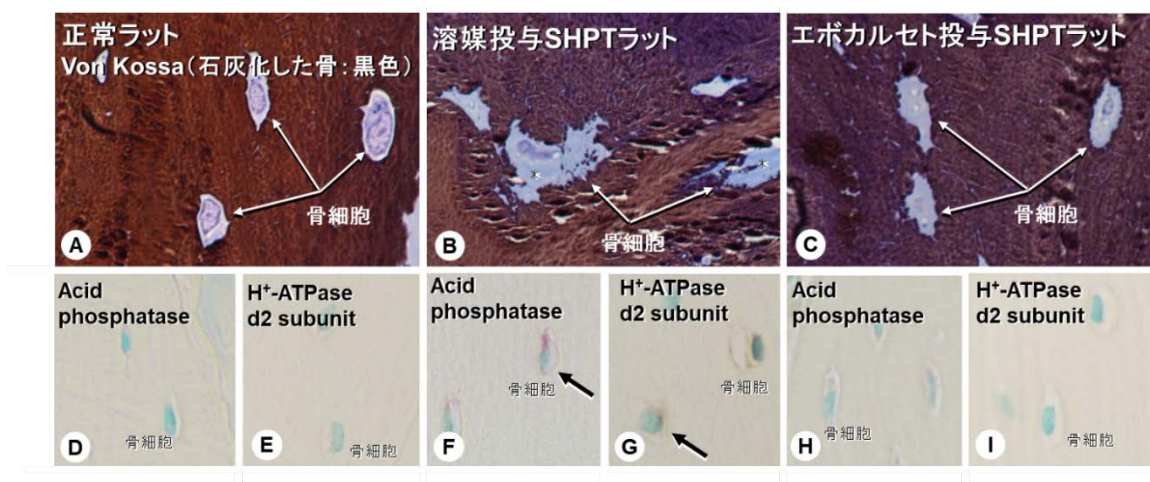


図 2. エポカルセト投与二次性副甲状腺機能亢進症 (SHPT) ラット皮質骨で見られる骨細胞性骨溶解 (骨細胞周囲の骨基質ミネラルの溶解)
 正常ラットの皮質骨に埋め込まれた骨細胞は、周囲を石灰化した骨基質 (黒色) で囲まれている。一方、溶媒投与 SHPT ラットでは、骨細胞の周囲に骨が溶かされた部分 (水色) が存在し、骨細胞は骨基質溶解に関与する因子 Acid phosphatase (F、赤色) や H^+ -ATPase (G、茶色) を産生する。エポカルセトを投与すると、骨細胞周囲の骨溶解や基質溶解に関与する因子の発現が抑制される。

【用語解説】

*1 *in vitro* … 試験管内で、シャーレの上で。生体外での実験という意味。それに対して、生物の体内での実験は *in vivo* と称する。