

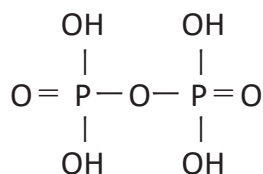
## ラット切歯象牙質に認められるビスホスフォネートの硬組織形成障害

新井 通次

### 1. はじめに

ビスホスフォネートはピロリン酸に類似した化合物 (図1) で、破骨細胞による骨吸収を抑制することから、骨粗鬆症や骨転移した悪性腫瘍による骨吸収・破壊に対する治療薬として広く用いられている<sup>1,2</sup>。2003年、ビスホスフォネート製剤を投与されている患者に抜歯を行った後に顎骨壊死が起こることが米国で報告され<sup>3</sup>、歯科医療に混乱を招いた。この顎骨壊死は「ビスホスフォネート関連顎骨壊死」と呼ばれ、歯科医師や歯科衛生士の国家試験にもビスホスフォネートの副作用・有害作用として頻繁に出題され、今や国試の定番問題とも言える。このようにビスホスフォネートに関しては「顎骨壊死」に注目が集まるあまり、この薬物の性状や骨吸収の機序など本質的なところへの理解はやや及ばないように思える。薬理学担当者としては、「ビスホスフォネート＝顎骨壊死」というような短絡的な理解は到底受け入れられないのだが、他にも覚えることが沢山ある国試受験生を惑わすようなことは言うてはいけないとも思っている。せめて受験から解放された後には、医療従事者としてビスホスフォネートに関する知識を掘り下げて頂きたいと願っている。

A



B

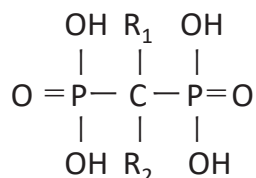


図1 ピロリン酸 (A) とビスホスフォネート (B) の化学構造  
HEBP は R<sub>1</sub>=OH, R<sub>2</sub>=CH<sub>3</sub>

ビスホスフォネートの開発は、1962年、Fleisch<sup>4</sup>が無機のピロリン酸 (図1A) を発見したことに遡る。彼は、ピロリン酸について、正常の軟組織で石灰化が起こらないようにしている石灰化阻害因子という仮説を提唱した。ピロリン酸は、リン酸とカルシウムから

のヒドロキシアパタイト形成を抑制することから、異所性石灰化など生体での病的な石灰化を抑制することが期待された。しかし、ピロリン酸のP-O-P結合は生体内で分解されやすい不安定な構造のため、安定したP-C-P結合を持ったエチドロネート (HEBP) が開発された<sup>5</sup>。これが、最初のビスホスフォネート製剤である。このHEBPは、歯科ではリン酸カルシウム結晶抑制作用に基づいて歯石防除剤としての可能性が期待されたが実現しなかった。一方、HEBPには破骨細胞による骨吸収を抑制する効果も見いだされ、パジェット病や閉経後骨粗鬆症のような骨吸収が著しく亢進した骨疾患の治療薬として応用された。その後、多くのビスホスフォネート剤が骨吸収抑制薬として開発され、骨粗鬆症治療の第一選択薬として広く用いられている。

骨は常に破骨細胞による骨吸収と骨芽細胞による骨形成からなる代謝 (リモデリング) を活発に営み、その動的平衡のもとに骨塩量を一定に維持しつつ古い骨組織を新しい骨組織に置き換えている<sup>6</sup>。骨粗鬆症は、この骨形成と骨吸収からなる代謝回転の動的平衡が崩れ、骨吸収が骨形成に比べ優位な状態が続くことで、骨量の減少と骨強度の低下を来す骨の疾患である<sup>1,6</sup>。代謝回転をしている骨においては、HEBPによる石灰化抑制作用よりも骨吸収抑制作用が勝るため、全体として骨量の増加が認められる。即ち、骨においては、石灰化抑制作用は隠れてしまう。ここでは、ラット切歯を用いることによって、HEBPの石灰化抑制作用を容易に検出できることを示す。

### 2. ラット切歯象牙質のコンタクトマイクロラジオグラム (CMR)

ラットの下顎骨は左右の二対からなり、それぞれに1本の切歯 (前歯) と3本の臼歯がある。ラットに限らず、リスやビーバーなど齧歯類は、切歯が前方に伸び続けるという特徴を有しているため、常に堅いものを噛み切歯の先端を削り続けなければならない。切歯の大部分は下顎骨内に埋まっていて見えないがダイア

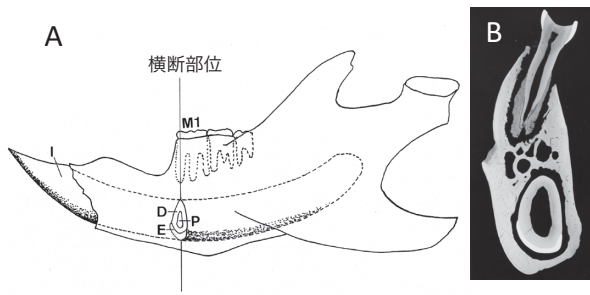


図2 ラット下顎切歯横断面のCMR像(A)と横断部位の模式図(B)切歯(I),象牙質(D),エナメル質(E),歯髄(P),第1大白歯(M1)

モンドディスクで切断すると切歯の横断面を観察することが出来る(図2A)。図2Bには、第一大臼歯の先端の部位で切断した下顎切歯横断面のコンタクトマイクロラジオグラム(CMR)像を示す。すなわち、下顎骨を樹脂に包埋し硬化させた後にダイヤモンドディスクで厚さ300 $\mu$ m程度の横断標本を切り出し、砥石で厚さ50 $\mu$ mになるまで注意深く研磨して観察用の未脱灰切歯横断標本を作製する。CMR像は、この研磨標本をX線フィルムに密着して軟X線を照射して現像したものである。CMR像には、X線を通し難い石灰化部位は白い部分として、通し易い軟組織は黒い部分として認められる<sup>7</sup>。

### 3. ラット切歯象牙質石灰化に及ぼすHEBPの影響

図3には、ラット下顎切歯未脱灰横断標本のCMR像を示す。図は切歯象牙質の部分のみを示している。ラットには、1週間間隔で、HEBPの投与量を変えて3回皮下投与し、Controlには生理食塩水を投与した。即ち、第1週目には2mg/kg、第2週目には8mg/kg、第3週目には32mg/kg投与した。2mg/kgでは石灰化障害を示す黒線はほとんど認められないが、8mg/kgでは明瞭となり、32mg/kgでは著しく認められた。すなわち、HEBPは8mg/kgから32mg/kgの投与量で用量に依存した象牙質の石灰化障害が認められた。図4は、2日毎にHEBP(2, 4, 8mg)を90日間皮下投与したラットの下顎切歯未脱灰横断標本のCMR像を示す。Controlには同様に生理食塩水を投与した。2mg/kgでは投与毎の石灰化抑制は分かり難いが、90日間連続投与による石灰化抑制の影響が横断面の変形となって認められる。4mg/kgでは投与毎の石灰化抑制は明白に認められる。さらに、8mg/kgでは象牙質石灰化抑制による横断面の変形は著しく認められる。これらの結果は、HEBPは、低用量であっても長期投与すれば著しい石灰化抑制を示すことを明らかにしている。

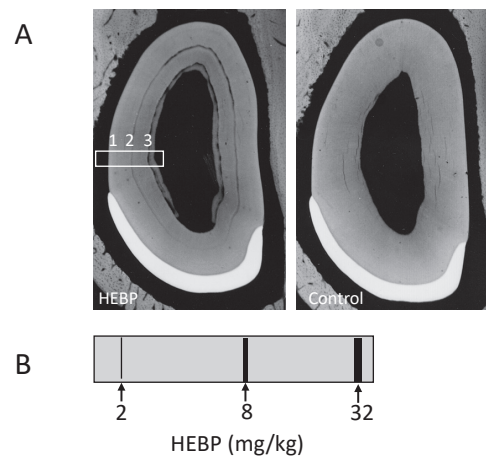


図3 ラット下顎切歯横断面のCMR像(A)と象牙質石灰化障害の模式図(B)ラットにHEBPを7日間隔で、2mg/kg、8mg/kg、32mg/kgと3回投与し、Controlには3回とも生理食塩水を投与した。

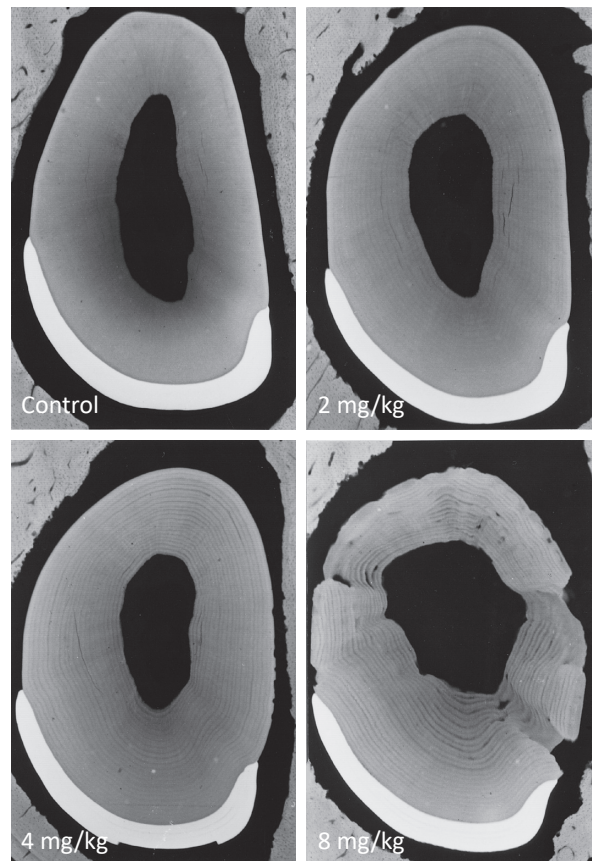


図4 ラット下顎切歯横断面のCMR像  
ラットに2日毎にHEBP(2, 4, 8mg)を90日間皮下投与した。Controlには生理食塩水を投与した。

### 4. 考察

ヒトをはじめとする哺乳類では、骨と歯のみが石灰化し、それ以外の軟組織は通常石灰化しない。生体内での石灰化について、Fleisch<sup>4</sup>は、軟組織では体液中に存在するピロリン酸が石灰化阻害因子としてハイド

ロキシアパタイトの形成抑制するために石灰化が起こらず、歯や骨などの硬組織ではホスファターゼによりピロリン酸が分解されるために石灰化が起こるという仮説を提唱した。その後、ピロリン酸のP-O-P構造をP-C-P構造に変化させたHEBPが生体内で安定な物質として開発された。HEBPの性質はピロリン酸と類似し、ヒドロキシアパタイトに親和性を有し、石灰化を抑制した。HEBPは当初、異所性石灰化の抑制や歯石の防止などが期待されたが、石灰化抑制剤として使用されることにはならなかった。しかし、ピロリン酸の類似化合物であるポリリン酸ナトリウムは歯磨剤に配合されて、歯石や着色の防止成分として利用されている。ビスフォスフォネートはその後見いだされた骨吸収抑制作用に着目されて、骨粗鬆症治療薬として多くの薬物が開発されて現在に至っている。ビスフォスフォネートは、大量に投与した場合には、骨組織にくる病のような石灰化抑制が認められるが、骨粗鬆症に対し治療量を用いた場合には骨組織に石灰化抑制は観察されない。即ち、ラットなどの実験動物を用いた研究で、骨組織を対象にした場合、ビスフォスフォネートによる石灰化抑制作用は隠れてしまい、容易に認め

ることが困難となる。これに対し、対象を切歯象牙質にした場合には、本研究で示したように石灰化抑制作用が鮮明にすることが出来た(図3, 4)。歯は骨のように代謝回転することのない硬組織であり、さらにヒトの歯は、ラットの切歯のように象牙質形成が生涯続くようなことはない。しかし、ヒトでも歯の形成期には石灰化障害は起こり得るので注意しなくてはならない。歯の形成障害や着色が知られる抗菌薬のテトラサイクリンが、8歳未満の小児への全身適用を回避するように注意されているのはこのためである。ビスフォスフォネートも歯の形成障害の可能性はあるのだが、骨粗鬆症治療薬が小児に適用されることは現実的ではないと思われる。

最後に、ビスフォスフォネートの骨吸収抑制の機序にも簡単に触れておく。ビスフォスフォネートは骨組織に対して親和性が高いため、投与されたビスフォスフォネートは骨組織に蓄積する。この骨を破骨細胞が破壊・吸収する際に、骨に蓄積したビスフォスフォネートによって機能低下やアポトーシスが生じる。すなわち、ビスフォスフォネートにより骨吸収が抑制されることになる。

#### 参考文献

1. 高岡邦夫, 清水富永: ビスフォスフォネートの骨吸収抑制作用とそのメカニズム. 骨シグナルと骨粗鬆症. 羊土社, 東京, 1997, 92-97.
2. 竹内靖博: 経口ビスフォスフォネート治療の進歩と課題. *Clinical Calcium*, 24(1):27-33, 2014
3. Marx RE: Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. *J Oral Maxillofac Surg*. 61:1115-7, 2003
4. Fleisch H, Bisaz S: Mechanism of calcification; Inhibitory role of pyrophosphate. *Nature* 195: 911, 1962
5. 嶋越美和: エチドロネートの創薬・開発研究の歴史. *The Bone*, 19(1):35-39, 2005
6. 須田立雄: 骨はどのようにして形成され、破壊されるか. *臨床病理*, 50:267-272, 2002
7. Arai M, Matsumoto S, Inoue H, Mizutani S, Mizutani S, Kojima K, Togari A: Use of rat incisor dentin for evaluating toxic effects on mineralization in vivo. *Toxicology Methods*, 8:59-67, 1999