



# HOKKAIDO UNIVERSITY

|                  |                                                                                   |
|------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| Title            | ビスフォスフォネート製剤に関する新たな知見                                                             |
| Author(s)        | 坪井, 香奈子; 北川, 善政; 網塚, 憲生                                                           |
| Citation         | 北海道歯学雑誌, 35(2), 176-178                                                           |
| Issue Date       | 2015-03                                                                           |
| Doc URL          | <a href="https://hdl.handle.net/2115/58258">https://hdl.handle.net/2115/58258</a> |
| Type             | journal article                                                                   |
| File Information | 35-02-11tsuboi.pdf                                                                |



## 最新の歯学

## ビスフォスフォネート製剤に関する新たな知見

## New insights on the effect of bisphosphonates in bone and outside the bone environment

北海道大学大学院歯学研究科 <sup>1)</sup>口腔健康科学講座 硬組織発生生物学<sup>2)</sup>口腔病態学講座 口腔診断内科学坪井香奈子<sup>1,2)</sup>, 北川 善政<sup>2)</sup>, 網塚 憲生<sup>1)</sup>

## はじめに

ビスフォスフォネート (BP) 製剤は、骨粗鬆症治療薬として最も広く使用されており、破骨細胞を抑制し骨吸収を抑制することで骨量を増加させると考えられている。しかし近年、BP製剤は破骨細胞だけではなく、骨芽細胞や骨細胞にも大きな影響を与えること、さらには骨以外の細胞環境、例えばマクロファージ<sup>1,2)</sup>や角化細胞<sup>3,4)</sup>、筋芽細胞<sup>5-7)</sup>といった種々の細胞に対して細胞毒性を示すことが分かってきた。そこで本稿では、BP製剤のさまざまな作用について我々の所見も踏まえてご紹介したい。

## 1. ビスフォスフォネート製剤の骨関連細胞群への影響

リセドロネート、アレンドロネート、ミノドロネートなどの窒素含有ビスフォスフォネート (BP) 製剤は、メバロン酸経路のファルネシルピロリン酸合成酵素を抑制しファルネシルピロリン酸の合成を阻害することで、その下流のゲラニルゲラニルピロリン酸合成を阻害する<sup>8,9)</sup>。そしてその結果、小胞輸送や細胞生存に重要な役割をする低分子GTP結合タンパク質の合成を障害する。低分子GTP結合タンパク質は破骨細胞にも存在するため、このタンパク質が障害されることで最終的に破骨細胞の機能不全、すなわちアポトーシスを誘導し、骨吸収を抑制すると考えられている<sup>10,11)</sup>。しかし、BP製剤が骨吸収を抑制するためには、破骨細胞のアポトーシスを誘導することが必ず必要か否かについては今も議論されている。Halasy-Nagyら<sup>12)</sup>は、アレンドロネートやリセドロネートによる骨吸収抑制作用は、破骨細胞がアポトーシスを起こさなくても生じると報告している。我々のアレンドロネート連日投与後休薬を行ったマウスのモデルを使用した研究においても、BP製剤投与により骨量は増加し骨吸収は抑制されたにも関わらず、破骨細胞数はBP製剤投与中から投与中止後において変化しなかった。すなわちBP製剤が破骨細胞の骨吸収能を抑制するためには、破骨細胞のアポトーシスが誘導されることは必須条件ではないことが示唆された。

ところで、通常のリモデリングの過程では、骨吸収と骨

形成はバランスをとりながら連動しており、それは破骨細胞と骨芽細胞との細胞学的なカップリングに依存している。したがって、BP製剤により破骨細胞の機能が低下するとカップリング機構が作用せず、その影響は骨芽細胞にまで及ぶことが考えられる。すでにいくつかの報告<sup>13-15)</sup>でも、BP製剤投与により骨芽細胞の活性が低下したと述べられている。さらにBP製剤の影響は骨芽細胞だけでなく骨細胞にまで波及すると考えられており、低用量のBP製剤はconnexin43を透過し骨細胞に直接作用することで骨細胞のアポトーシスを抑制するという報告もある<sup>16,17)</sup>。先ほどと同様の我々の実験でも、アレンドロネート投与中止後には萎縮した骨細胞と骨小腔に広い間隙を認めることを確認した。また、アレンドロネートを外頸静脈から1回のみ投与した後の骨組織を観察したところ、細胞体がふくよかな活性型骨芽細胞が局在するにも関わらず、骨細胞は萎縮し歪な形態を示し、それら骨細胞の細胞突起のアクチン線維は一部断裂していることも明らかとなった。すなわちアレンドロネートは骨細胞に対し直接作用を有すること、特に骨細胞の細胞骨格系にダメージを与えることが推測された。

以上よりBP製剤の骨組織への影響を考えるとときには、破骨細胞についてのみ考えるのではなく、骨芽細胞や骨細胞への影響も考慮する必要がある。

## 2. ビスフォスフォネート関連顎骨壊死

BP製剤の重篤な副作用であるビスフォスフォネート関連顎骨壊死 (BRONJ) は未だに有効な治療法は確立しておらず、いったん発症するとその治療に難渋する。したがって、近年の米国口腔顎顔面外科学会のポジションペーパーでも抜歯等の観血処置を行う際、経口BP製剤を長期間服用している場合には休薬することを推奨し<sup>18)</sup>、BRONJを発症させないことが一番重要としている。BRONJの発症機序に関してはさまざまな説が考えられているが、今もなお不明な点が多い。最近、BP製剤は軟組織にも影響を及ぼすと言われ、それがBRONJの発症に関与しているのではないかとの見解がある。いくつかの研究では歯周組織を

構成する細胞, 特に口腔粘膜角化細胞<sup>3,4)</sup>や線維芽細胞<sup>4, 19-21)</sup>に対してBP製剤はその増殖能や遊走能を抑制するということが報告されている。これらの細胞は口腔軟組織の創傷治癒に関与しているため、骨に蓄積したBP製剤が抜歯や骨折等の影響で骨外に放出し、周囲組織の細胞にダメージを与えることがBRONJ発症の引き金となるのかもしれない。また、前述したBP製剤による骨細胞の変化もBRONJの発症に関与している可能性も考えられ、発症機序に関してはさらなる研究が必要とされる。

### 3. ビスフォスフォネート製剤の骨外環境への影響について

BP製剤の長期服用は、骨粗鬆症が原因で発症する典型的な骨折のリスクは低減させるが、非外傷性的大腿骨転子下及び近位大腿骨骨幹部に起こる非定型大腿骨骨折(AFF)のリスクは増加する<sup>22)</sup>。このAFFもBRONJと同様にBP製剤の重篤な副作用の一つである。では、下肢骨に常に接触している骨格筋にもBP製剤は何らかの影響を与えるのではないか。近年の研究では、BP製剤は未分化の筋芽細胞にも細胞毒性を示すことが明らかとなっており、Shiomiら<sup>7)</sup>は、BP製剤は筋芽細胞の細胞骨格を破壊し、遊走能、増殖能、分化能を抑制すると述べ、しかし一方で最終的に分化した筋管細胞の機能には影響を与えないと報告している。他の報告でもBP製剤は筋芽細胞のアポトーシスを誘導するが<sup>6)</sup>、骨格筋の機能不全は誘導しない<sup>5)</sup>と言う。BP製剤の筋組織への作用については、さらなる検討が必要である。しかしBP製剤の長期内服患者ではAFF発生のリスクが高まると同時に筋再生能が低下する可能性があるため、わずかな外傷にも注意が必要であるだろう。

さらに、BP製剤は、血管平滑筋細胞の増殖能を抑制し<sup>23, 24)</sup>、血管の石灰化を抑制する作用もある。血管の石灰化は、動脈硬化を基盤とする内膜の石灰化(アテローム硬化型)と糖尿病や慢性腎疾患患者に認められる中膜の石灰化に分類される。BP製剤はすでに慢性腎疾患患者の骨量低下の抑制の治療薬として使用されているが、その際BP製剤内服患者は非内服患者に比べ血管石灰化の進行が抑制されたという報告がある<sup>25)</sup>。血管の石灰化は心臓血管性疾患のリスクファクターであり、その予防は重要である。BP製剤は骨粗鬆症治療薬だけでなく、血管石灰化の予防薬としても有効であろう。

### お わ り に

BP製剤は骨関連の細胞群だけでなく骨外の周囲環境にも大きな影響を及ぼすことが分かってきた。BP製剤の作用については未だ不明な点が多いと言える。今後は骨以外の組織にも視野を広げ研究を進めていく必要があるだろう。

### 参 考 文 献

- 1) Stevenson PH, Stevenson JR: Cytotoxic and migration inhibitory effects of bisphosphonates on macrophages. *Calcif Tissue Int.* 38(4): 227-33, 1986.
- 2) Cecchini MG, Felix R, Fleisch H, Cooper PH: Effect of bisphosphonates on proliferation and viability of mouse bone marrow-derived macrophages. *J Bone Miner Res.* 2(2): 135-42, 1987.
- 3) Saito T, Izumi K, Shiomi A, Uenoyama A, Ohnuki H, Kato H, Terada M, Nozawa-Inoue K, Kawano Y, Takagi R, Maeda T: Zoledronic acid impairs re-epithelialization through down-regulation of integrin  $\alpha v \beta 6$  and transforming growth factor beta signalling in a three-dimensional in vitro wound healing model. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 43(3): 373-80, 2014.
- 4) McLeod NM, Moutasim KA, Brennan PA, Thomas G, Jenei V: In vitro effect of bisphosphonates on oral keratinocytes and fibroblasts. *J Oral Maxillofac Surg.* 72(3): 503-9, 2014.
- 5) Widrick JJ, Fuchs R, Maddalozzo GF, Marley K, Snow C: Relative effects of exercise training and alendronate treatment on skeletal muscle function of ovariectomized rats. *Menopause.* 14 (3 Pt 1): 528-34, 2007.
- 6) Nishiguchi T, Akiyoshi T, Anami S, Nakabayashi T, Matsuyama K, Matzno S: Synergistic action of statins and nitrogen-containing bisphosphonates in the development of rhabdomyolysis in L6 rat skeletal myoblasts. *J Pharm Pharmacol.* 61(6): 781-8, 2009.
- 7) Shiomi K, Nagata Y, Kiyono T, Harada A, Hashimoto N: Differential impact of the bisphosphonate alendronate on undifferentiated and terminally differentiated human myogenic cells. *J Pharm Pharmacol.* 66(3): 418, 2014.
- 8) Amin D, Cornell SA, Gustafson SK, Needle SJ, Ullrich JW, Bilder GE, Perrone MH: Bisphosphonates used for the treatment of bone disorders inhibit squalene synthase and cholesterol biosynthesis. *J Lipid Res.* 33 (11): 1657-1663, 1992.
- 9) Rogers MJ: New insights into the molecular mechanisms of action of bisphosphonates. *Curr Pharm Des.* 9: 2643-2658, 2003.
- 10) Palokangas H, Mulari M, Vaananen HK: Endocytic pathway from the basal plasma membrane to the ruffled border membrane in bone resorbing osteoclasts. *J Cell Sci.* 110: 1767-1860, 1997.
- 11) Abu-Amer Y, Teitelbaum SL, Chappel JC,

- Schlesinger P, Ross FP: Expression and regulation of RAB3 proteins in osteoclasts and their precursors. *J Bone Miner Res* 11 : 1855-1860, 1999.
- 12) Halasy-Nagy JM, Rodan GA, Reszka AA: Inhibition of bone resorption by alendronate and risedronate does not require osteoclast apoptosis. *Bone* 29(6) : 553-559, 2001.
  - 13) Bikle DD, Morey-Holton ER, Doty SB, Currier PA, Tanner SJ, Halloran BP: Alendronate increases skeletal mass of growing rats during unloading by inhibiting resorption of calcified cartilage. *J Bone Miner Res* 9(11) : 1777-1787, 1994.
  - 14) Nakamura M, Udagawa N, Matsuura S, Mogi M, Nakamura H, Horiuchi H, Saito N, Hiraoka BY, Kobayashi Y, Takaoka K, Ozawa H, Miyazawa H, Takahashi N: Osteoprotegerin regulates bone formation through a coupling mechanism with bone resorption. *Endocrinology* 144(12) : 5441-5449, 2003.
  - 15) Iwata K, Li J, Follet H, Phipps RJ, Burr DB: Bisphosphonates suppress periosteal osteoblast activity independently of resorption in rat femur and tibia. *Bone* 39(5) : 1053-1058, 2006.
  - 16) Plotkin LI, Weinstein RS, Parfitt AM, Roberson PK, Manolagas SC, Bellido T: Prevention of osteocyte and osteoblast apoptosis by bisphosphonates and calcitonin. *J Clin Invest* 104(10) : 1363-1374, 1999.
  - 17) Plotkin LI, Manolagas SC, Bellido T: Transduction of cell survival signals by connexin-43 hemichannels. *J Biol Chem* 277(10) : 8648-8657, 2002.
  - 18) Ruggiero SL, Dodson TB, Fantasia J, Goodday R, Aghaloo T, Mehrotra B, O'Ryan F: American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons : American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on medication-related osteonecrosis of the jaw--2014 update. *J Oral Maxillofac Surg* 72(10) : 1938-56, 2014.
  - 19) Tipton DA, Seshul BA, Dabbous MKh: Effect of bisphosphonates on human gingival fibroblast production of mediators of osteoclastogenesis: RANKL, osteoprotegerin and interleukin-6. *J Periodontal Res*. 46(1) : 39-47, 2011.
  - 20) Cozin M, Pinker BM, Solemani K, Zuniga JM, Dadaian SC, Cremers S, Landesberg R, Raghavan S : Novel therapy to reverse the cellular effects of bisphosphonates on primary human oral fibroblasts. *J Oral Maxillofac Surg*. 69(10) : 2564-78, 2011.
  - 21) De Colli M, Zara S, di Giacomo V, Patruno A, Marconi GD, Gallorini M, Zizzari VL, Tetè G, Cataldi A: Nitric oxide-mediated cytotoxic effect induced by zoledronic acid treatment on human gingival fibroblasts. *Clin Oral Invest*. 2014.
  - 22) Park-Wyllie LY, Mamdani MM, Juurlink DN, Hawker GA, Gunraj N, Austin PC, Whelan DB, Weiler PJ, Laupacis A: Bisphosphonate use and the risk of subtrochanteric or femoral shaft fractures in older women. *JAMA*. 305(8) : 783-9, 2011.
  - 23) Zhou S, Fang X, Xin H, Guan S: Effects of alendronate on the Notch1-RBP-J $\kappa$  signaling pathway in the osteogenic differentiation and mineralization of vascular smooth muscle cells. *Mol Med Rep*. 8(1) : 89-94, 2013.
  - 24) Albadawi H, Haurani MJ, Oklu R, Trubiano JP, Laub PJ, Yoo HJ, Watkins MT: Differential effect of zoledronic acid on human vascular smooth muscle cells. *J Surg Res*. 182(2) : 339-46, 2013.
  - 25) Toussaint ND, Lau KK, Strauss BJ, Polkinghorne KR, Kerr PG: Effect of alendronate on vascular calcification in CKD stages 3 and 4: a pilot randomized controlled trial. *Am J Kidney Dis*. 56(1) : 57-68, 2010.