

氏名・(本籍) 高田 政彦 (京都府)  
学位の種類 博士 (医学)  
学位記番号 博士 (論) 第153号  
学位授与の要件 学位規則第4条第2項該当  
学位授与年月日 平成6年12月26日  
学位論文題目 Chronic Intramedullary Infusion of Interleukin-1 $\alpha$  Increases Bone Mineral Content in Rats  
(インターロイキン1 $\alpha$ の慢性的骨髄内注入はラットにおいて骨塩量を増加させる)

審査委員 主査 教授 大久保 岩 男  
副査 教授 福田 眞 輔  
副査 教授 森田 陸 司

## 論文内容要旨

### [目的]

骨吸収と骨形成の調節機構には、骨代謝調節ホルモンの他に、骨局所でのサイトカインその他の局所因子が、複雑に相互に関係していることが明らかにされつつある。それらのサイトカインのうち、強力な骨吸収作用を有するものとして知られているインターロイキン1 (IL-1) は、同時に骨形成作用を併せ有することが報告され、骨代謝を活性化させるその作用の多様性が示唆されている。

そこで、より生理的に近い環境で、生体内 (in vivo) でのIL-1の骨への作用を明らかにする目的で、少量のIL-1を直接ラットの大腿骨に長期間持続注入する方法を確立し、2週間の持続注入後の大腿骨の骨密度測定および非脱灰標本による骨組織学的検索をおこなった。

### [方法]

Wister系雌ラットを4群に分け (各7~12匹)、それらの大腿骨中央部より骨髄内に挿入留置した21ゲージ針を通じて、背部皮下に埋没留置したアルザ浸透圧ミニポンプにより、1) IL-1 $\alpha$ の0.2, 1.0, 2.0, 4.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 溶液、2) IL-1 $\alpha$ 1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ とインドメタシン $10^{-3}\text{M}$ 溶液、3) プロスタグランディンE2 (PGE<sub>2</sub>) 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 溶液、4) それらの溶媒、を0.5 $\mu\text{l}/\text{hr}$ の速度で14日間注入しておこなった。14日目に脱血屠殺ののち、摘出した両側大腿骨の軟X線撮影、二重エネルギー吸収法(QDR-2000, Hologic) による骨密度測定および非脱灰骨組織標本による組織学的検索をおこなった。

### [結果]

希釈緩衝液のみとIL-1 $\alpha$  0.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の注入ラット群では、大腿骨は軟X線写真上、明らかな変化を認めなかったが、IL-1 $\alpha$  1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の注入群では、軟X線写真上、注入部位周囲に明らかな骨硬化像を認めた。IL-1 $\alpha$  1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の注入によるその骨硬化像はインドメタシン ( $10^{-3}\text{M}$ ) の同時注入にて抑制された。また、PGE<sub>2</sub>500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の注入にて、軟X線写真上、注入部位周囲に著明な骨硬化像を認めた。骨密度測定においては、希釈緩衝液のみとIL-1 $\alpha$  0.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の注入群では、対象としての注入反対側の大腿骨骨密度と比較して、ごく軽度の骨塩量の増加を認めたが、両者の間には有意差はみられなかった。しかし、より高い濃度のIL-1 $\alpha$  (1.0, 2.0, 4.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) の注入群では、希釈緩衝液の

みとIL-1 $\alpha$  0.2 $\mu$ g/mlの注入群の両者にたいして有意な骨密度の増加を認めた。このIL-1 $\alpha$  1.0 $\mu$ g/mlの注入による骨密度の増加はインドメタシン (10<sup>-3</sup>M) の同時注入にて有意に抑制された。また、PGE<sub>2</sub> 500 $\mu$ g/mlの注入では溶解液のみの注入に比して有意な骨密度の増加を認めた。組織学的には、IL-1 $\alpha$  1.0 $\mu$ g/ml以上の注入にて注入部位に骨形成を認め、さらにその周囲に著明な骨膜反応(蛍光顕微鏡下にカルセインのラベルを確認)を認めた。また、骨髄内には小単核細胞の浸潤を認め、この反応はインドメタシン (10<sup>-3</sup>M) の同時注入にて抑制された。PGE<sub>2</sub> 500 $\mu$ g/mlの注入では骨髄内の著明な骨形成と骨膜反応を認めた。一方、IL-1 $\alpha$ の各濃度の骨髄内注入では血清カルシウムの有意な変動は認めなかった。

#### [ 考 察 ]

in vitro系の実験では、強力な骨吸収効果を示すIL-1 $\alpha$ は、骨局所への微量の長期的持続注入によるin vivo系では逆に強力な骨形成効果を有することが示された。

その機序としては、

1) IL-1 $\alpha$ が直接骨芽細胞機能を亢進させる可能性の他、2) IL-1 $\alpha$ が骨局所で何らかの骨形成促進因子を活性化させ、間接的に骨形成を亢進させるのか、3) IL-1 $\alpha$ の持続注入により、IL-1 $\alpha$ 受容体のdown regulationが起り、IL-1 $\alpha$ の骨吸収作用が隠されたために、それに引き続く骨形成のみが表現されている可能性が考えられる。

一方、PGE<sub>2</sub>の局所持続注入によっても、骨膜反応を併なう著明な骨形成が認められ、かつPGE<sub>2</sub>合成阻害剤であるインドメタシンによって、このIL-1 $\alpha$ の骨形成が抑制されたことは、IL-1 $\alpha$ の骨形成促進効果はIL-1 $\alpha$ により産生されたPGE<sub>2</sub>を介する間接的な効果である可能性が大であることを示唆していると思われる。

#### [ 結 論 ]

強力な骨吸収促進効果を有するものとして知られているIL-1 $\alpha$ は、in vivoで強力な骨形成効果を示すことが明らかにされた。この効果は、IL-1 $\alpha$ によって骨局所で産生される骨形成促進因子を介する可能性が大であると考えられた。

### 学位論文審査の結果の要旨

骨吸収と骨形成の調節機構には多くの因子が関与しており、現在その解明が大きな課題となっている。従来、これらの研究はインビトロの系にてなされてきたが、本研究は、骨吸収因子と考えられているインターロイキン-1を、より生理的に近い環境での骨への作用を明らかにする目的にて、インターロイキン-1を直接ラットの大腿骨骨髄内に持続注入する方法を確立し、2週間の持続注入後のその効果を、大腿骨の軟X線写真、骨塩量測定および非脱灰標本による骨組織学的検索により検討したものである。

インターロイキン-1の持続的骨髄内注入は、対照骨と比較して、注入側に軟X線写真上骨硬化像、骨塩量の増加、そして組織学的には、注入部位周囲と骨膜における骨形成を用量依存的に生じさせた。さらに、この効果はインドメタシンの同時注入により抑制された。インターロイキン-1による骨形成の成因としては、

1) インターロイキン-1が直接骨芽細胞機能を亢進させる可能性の他、2) インターロイキン-1が骨局所で何らかの骨形成促進因子を活性化させ、間接的に骨形成を亢進させる、3) インターロイキン-1の持続注入により、インターロイキン-1受容体のdown regulationが起り、インターロイキ

ン-1の骨吸収作用が隠された為に、それに引き続く骨形成のみが表現されている可能性が考えられた。

一方、プロスタグランジンE<sub>2</sub>の持続的骨髄内注入は著明な骨髄内と骨膜における骨形成を示した。インターロイキン-1の骨形成はインドメタシンにより抑制されたことを考え併せて、インターロイキン-1の骨形成は、プロスタグランジンE<sub>2</sub>の産生を介する可能性が大であると思われた。

以上の研究はインビトロで強力な骨吸収作用を有するインターロイキン-1はインビボでは著明な骨形成を発現することを示し、このことはインターロイキン-1は生体内において、多様な効果を示す可能性を明らかにしたものであり、今後の骨代謝研究に新しい光を当てたものとして、博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。