Contribution of methylglyoxal to delayed healing of bone injury in diabetes

メタデータ	言語: Japanese
	出版者:
	公開日: 2017-12-28
	キーワード (Ja):
	キーワード (En):
	作成者: 相川, 敬男, Aikawa, Takao
	メールアドレス:
	所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/00049646

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.

論文内容の要旨及び審査結果の要旨

受付番号　医薬保博甲 第 112 号　氏名　相川　敬男
論文審査担当者　主査　安藤　仁　　教授
副査　井上　啓　　教授
篁　俊成　　教授

学位請求論文
題　　名　Contribution of methylglyoxal to delayed healing of bone injury in diabetes
（糖尿病ではメチルグリオキサール産生による糖化ストレスの亢進によって骨修復能が低下する）

掲載雑誌名　Molecular Medicine Reports　2017 年 7 月掲載

糖尿病では、骨折のリスクが上昇し骨折治癒が遷延する。その機序の一つとして、持続的な高血糖による糖化ストレスの亢進状態、つまり、後期糖化反応生成物（advanced glycation end-products, AGEs）の形成亢進と蓄積が考えられている。そのような AGEs 形成の前駆体で反応性が非常に高いジカルボニル化合物 methylglyoxal（MGO）は、糖代謝の中間代謝産物として生じ、細胞傷害性も強く、糖尿病状態においてはその血中濃度、組織中濃度が上昇することが知られている。したがって、MGO は骨折治癒に影響を与えているのではないかと推測された。本研究では、糖尿病における糖化ストレス、その中でも反応性が最も高い MGO 産生亢進が骨修復能に与える影響を in vitro と in vivo で検証した。

In vivo では、少量ストレプトゾトシン（STZ）5 日間連投により糖尿病マウスを作成し、糖尿病状態を評価し、3 週後に左大腿骨遠位内側部に径 1 ㎜の骨欠損を作成した。その後、3，7，10，14 日目に CT 撮影を行い、骨欠損部の修復過程を非糖尿病対照マウスと比較検討した。14 日目に血液・患側大腿骨を採取して、血中・大腿骨中の AGEs 値を液体クロマトグラフィー質量分析法（LC-MS/MS）で測定し、非糖尿病対照マウスと比較検討した。その結果、糖尿病マウスでは、骨欠損部での骨形成は 7，10 日目において糖尿病群で有意に遅延していた（$p<0.05$）。血中と大腿骨中の AGEs 値は、特に MGO 由来の MG-H1 (methylglyoxal-hydroimidazolone) が上昇していた。

In vitro では、MGO の作用を検証するためにマウス間葉系間質細胞（ST2 細胞）を用いて実験を行った。ST2 細胞の培地中に MGO（0～400 μM）を添加し、細胞増殖、LDH アッセイと骨芽細胞分化効果判定を行った。骨芽細胞分化効果判定は 7 日目にアルカリフォスファターゼ（ALP）染色、28 日目に Alizarin Red 染色を使用した。細胞培養系での検証において、培養 ST2 細胞の細胞増殖や骨細胞分化は MGO 濃度依存的に低下し、特に 200 μM 以上で有意に抑制された（$p<0.05$）。また、細胞傷害マーカーである培地中 LDH 濃度も有意に上昇していた（$p<0.05$）。

以上の結果から、糖尿病マウスでは特に MGO 由来の AGE が上昇しており、MGO の直接作用により骨芽細胞の分化・増殖が抑制され、その結果、骨形成が遅れるものと推察された。したがって、今後は MGO 解毒酵素の活性化や MGO 消去薬の投与などにより骨修復能の改善が期待される。

本研究は、マウス骨中には MGO 由来の AGEs が上昇するということをはじめて見出し、糖尿病に伴う bone problem を考える上で重要な所見であり、整形外科学・代謝糖尿病学に貢献する労作と考えられ、本学の学位に値すると評価された。