

学 位 論 文 要 旨

氏名 山口 文

題 目：健康犬における骨代謝メカニズムの基礎的研究：個体要因と血清骨代謝マーカーの関連性について

論文要旨：

ヒトの骨関連疾患の一つである骨粗鬆症は、骨量の減少と骨組織の微細構造の変化を特徴とする全身性の疾患であり、原発性のものと、様々な疾患や栄養や薬剤などに起因する二次性のものに分けられる。原発性骨粗鬆症の一つである女性の閉経後骨粗鬆症は、閉経によるエストラジオール (E2) 減少に伴って、破骨細胞の抑制が弱まり、骨代謝回転が増加して骨密度と骨質の低下につながる。ラットとウサギは骨代謝をモデリングに依存している動物であり、卵巣摘出後に高骨代謝回転状態を示し、骨量および海綿骨の減少を示すため、古くから骨研究のモデル動物として用いられてきた。また、イヌは骨組成や成長期後の骨代謝をリモデリングに依存している点でヒトと類似性があるため、骨研究においては有用であるとされてきた。しかし、臨床的には不妊手術を行ったイヌや高齢のイヌにおいて、骨粗鬆症のような病的な骨量や骨密度の減少が生じるとする報告は見当たらず、イヌの骨代謝は明らかになっていない部分が多い。

イヌの骨代謝に関する知見が不足する原因の一つには、健康な雌雄のイヌのサンプルを用いた骨代謝研究を行う事の難しさも考えられる。不妊手術および加齢による骨代謝への影響の有無、およびその機序の解明には、疾患や投薬による影響を排除した、健康で年齢幅が多様なイヌの基礎データを得る事が不可欠である。

そこで本研究では、健康なイヌの性別と年齢および不妊手術が骨代謝に与える影響を調査する事を目的とした。我々は、臨床的に健康な犬 169 頭 (雌 99 頭、雄 70 頭) の血清を用い、年齢をはじめとする個体要因と血中性ホルモン濃度と骨代謝マーカーとの関連性について比較検討を行った。

第一章では、未避妊雌 43 頭および避妊雌 56 頭の血清中の E2 濃度および、骨吸収マーカーである I 型コラーゲン架橋 N-テロペプチド (NTx) と破骨細胞が分泌するシステインプロテアーゼであるカテプシン K (CTK) を測定した。各項目を未避妊雌と避妊雌で比較し、年齢や卵巣子宮摘出手術 (OHE) からの経過時間との関連性を検索した。その結果、血清 E2 濃度と NTx 濃度は未避妊雌と避妊雌の間で有意差を認めず、CTK は両群とも殆どの検体で測定限界以下であった。また、血清 E2 濃度と年齢あるいは OHE からの経過時間はいずれも相関を認めず、NTx 濃度と年齢あるいは OHE からの経過時間も相関を認めなかった。血清 E2 濃度と NTx 濃度は避妊雌で弱い相関を認めた。この結果より、OHE は雌のイヌにおいて、血清 E2 濃度や NTx 濃度に影響を与えないことが示唆された。これにはイヌの繁殖周期が関連していると思われた。イヌは、約 6~10 ヶ月の繁殖周期で、E2 濃度が高くなるのはこのうち約 2 か月間の発情前期と発情期のみである。低 E2 状態の期間が長いイヌが、ヒトと同様に E2 が低下する事で高骨代謝回

転状態になるならば、生存に不利な骨減少を引き起こす可能性が生じる。また、現在、陸生哺乳類で閉経するのはヒト以外では確認されていない。一方、イヌは閉経しないと考えられており、性ホルモンと骨代謝の関係における動物種の違いは重要な意味を持つと考えられた。

第二章では、幅広い年齢層のイヌの血清 NTx 濃度を、未去勢雄、去勢雄、未避妊雌、避妊雌の 4 群で比較し、血清 NTx 濃度への性ホルモンの影響を考察した。年齢や体重、血液生化学検査項目と NTx との関連の検索も行った。その結果、4 群とも 2 歳以前は血清 NTx 濃度が高く、かつ加齢に伴って減少する傾向が見られた。一方、2 歳を過ぎると 4 群とも NTx 濃度は安定化し、最高齢に至るまで変化が認められなかった。そこで、2 歳以下の幼若犬コホートと 2 歳より上の成-老犬コホートに分けて統計解析を行った。成-老犬コホートでは、血清 NTx 濃度は未去勢雄、去勢雄、未避妊雌、避妊雌の順に高く、未避妊雌と避妊雌は有意差が無かった。また、年齢との相関は認められなかった。避妊雌群においてのみ血清 ALP と NTx 濃度との弱い相関が認められた。これらの結果より、イヌでは成長期の骨代謝の変化が 2 歳くらいまで続く事と、その後は骨代謝が一定化する事が示唆された。幼若犬コホートにおける不妊手術の有無による成長期の骨代謝への影響は不明な点が残されており今後の課題である。また、未避妊雌と避妊雌の血清 NTx 濃度に有意差は無かったが、未去勢雄と去勢雄は NTx 濃度に有意差があり、これは E2 とは対照的に雄性ホルモンが骨代謝に影響を与えている可能性を示唆していると考えられた。雌のイヌでは E2 の変化が骨代謝に影響を与えていない可能性が高く、ヒトの E2 欠乏状態に伴う骨代謝研究のモデル動物には適していないと考えられるが、その一方で、雄イヌは男性の性腺機能低下症に伴う骨量低下のモデル動物になり得る可能性がある。

本研究では、幅広い年齢と多数のサンプルでの調査を行った事で、イヌの骨代謝と性ホルモンの変動に関して新知見を得た。今後もイヌの骨代謝の詳細を紐解いていく事が望まれる。

学位論文審査の結果の要旨

氏 名	山口 文
審 査 委 員	主 査： 鹿児島大学 教授 藤木 誠
	副 査： 鹿児島大学 教授 三角 一浩
	副 査： 山口大学 教授 谷 健二
	副 査： 鹿児島大学 教授 帆保 誠二
	副 査： 山口大学 准教授 板本 和仁
題 目	健康犬における骨代謝メカニズムの基礎的研究：個体要因と血清骨代謝マーカーの関連性について
審査結果の要旨： 原発性骨粗鬆症の一つである女性の閉経後骨粗鬆症は、閉経によるエストラジオール (E2) 減少に伴って破骨細胞の抑制が弱まり、骨代謝回転が増加して骨密度と骨質の低下につながる。ラットとウサギは骨代謝をモデリングに依存している動物であり、卵巣子宮摘出手術 (OHE) 後に高骨代謝回転状態を示すことで骨量の減少を示すが、不妊手術を行ったイヌや高齢のイヌにおいて、骨粗鬆症のような病的な骨密度の減少が生じるとする報告は見当たらず、イヌの骨代謝は明らかになっていない部分が多い。そこで本研究では、健康なイヌの性別と年齢および不妊手術が骨代謝に与える影響を調査する事を目的とし、臨床的に健康な犬の血清を用い、年齢をはじめとする個体要因と血中性ホルモン濃度と骨代謝マーカーとの関連性について比較検討を行った。 第一章では、未避妊雌 43 頭および避妊雌 56 頭の血清中の E2 濃度および、骨吸収マーカーである I 型コラーゲン架橋 N-テロペプチド (NTx) と破骨細胞が分泌するシステインプロテアーゼであるカテプシン K (CTK) を測定し、未避妊雌と避妊雌で比較した。血清 E2 濃度と NTx 濃度は未避妊雌と避妊雌の間で有意差を認めず、CTK は両群ともほとんどの検体で測定限界以下であった。また、血清 E2 濃度と年齢あるいは OHE からの経過時間はいずれも相関を認めず、NTx 濃度と年齢あるいは OHE からの経過時間も相関を認めなかった。この結果より、OHE は、雌のイヌにおいて血清 E2 濃度や NTx 濃度に影響を与えないことが示唆された。 第二章では、イヌの血清 NTx 濃度を、未去勢雄、去勢雄、未避妊雌、避妊雌の 4 群で比較し、血清 NTx 濃度への性ホルモンの影響、年齢や体重、血液生化学検査項目と NTx との関連	

(別紙様式第 10 号)

性を考察した。その結果、4 群とも 2 歳以前は血清 NTx 濃度が高く、かつ成長に伴って減少する傾向が見られた。一方、2 歳を過ぎると 4 群とも NTx 濃度は安定化し、高齢に至るまで変化が認められなかった。また 2 歳以下の幼若犬コホートと 2 歳より上の成・老犬コホートに分けて統計解析を行った結果では、成・老犬コホートでは、血清 NTx 濃度は未去勢雄、去勢雄、未避妊雌、避妊雌の順に高く、未避妊雌と避妊雌は有意な差は無かった。また、年齢との相関は認められなかった。これらの結果より、イヌでは成長期の骨代謝は 2 歳くらいまで継続し、その後は骨代謝が一定化する事が示唆された。また、未去勢雄と去勢雄は NTx 濃度に有意差があり、これは E2 とは対照的に雄性ホルモンが骨代謝に影響を与えている可能性を示唆していると考えられた。

幅広い年齢のサンプルを用いて調査を行った本研究の成果は、イヌの骨代謝と性ホルモンの変動に関して、E2 が骨代謝に影響を及ぼさないことを明らかにし、イヌの繁殖周期の特徴が関連していることを示唆したことで、臨床的に骨粗鬆症を示さないイヌにおける骨代謝研究の基礎となった。

以上により本論文は、博士(獣医学)の学位論文として十分な価値を有するものと判定した。