

培養骨芽細胞を用いた骨代謝（骨リモデリング）制御機構の解明（21-1）

主任研究者 徳田 治彦 国立長寿医療研究センター 代謝・内分泌研究部（部長）

研究要旨

骨代謝は骨吸収を担う破骨細胞と骨形成を担う骨芽細胞により活発に営まれ、骨は絶えずリモデリングされ、その強度が維持されている。二つの機能細胞は、種々のサイトカイン、細胞増殖因子、オータコイド等の生理活性物質により巧緻に制御されている。骨のリモデリングの破綻は骨粗鬆症および骨折治癒の遅延の原因となる。最近、骨表面の骨芽細胞に隣接し存在するマクロファージ(osteal macrophage;骨マクロファージ)により産生されるサイトカインの oncostatin Mが骨損傷動物モデルにおいてその治癒を促進することが報告され、現在では骨マクロファージが、骨リモデリングの制御に重要な役割を果たしていると考えられている。しかしながらその制御機構の詳細は未だ明らかにされていない。本研究は、私共のこれまでの知見を踏まえ、新生仔マウス頭蓋冠より分離株化された骨芽細胞様 MC3T3-E1 細胞など培養ヒト骨芽細胞を用いて、マクロファージにより産生されるサイトカイン・ケモカインの骨芽細胞機能に及ぼす影響を詳細に解析し、骨マクロファージによる骨代謝・骨リモデリング制御機構、特に骨芽細胞との相互作用を解明するものである。培養骨芽細胞に oncostatin M、植物由来ポリフェノール(PP)、インクレチン(I)、selective estrogen receptor modulator (SERM)、トラマドール(T)等を作用させ、transforming growth factor- β 、tumor necrosis factor- α 、basic fibroblast growth factor 等で刺激し、macrophage colony-stimulating factor、osteoprotegerin 等の産生への影響およびその機序を検討した。Oncostatin Mは刺激物質に応じて極めて巧緻にこれらの産生を制御すること、PP、I、SERM および Tはその作用機序から oncostatin M と協働して骨リモデリングを制御することが示唆された。本研究から、高齢期の代謝性骨疾患における病態制御およびその解明に資する、様々な知見を得ることができた。

2023年度より当センター代謝内科に入院・通院している65歳以上の糖尿病患者を対象とした、高齢者糖尿病データベースの構築を開始し、パイロット研究として、高齢者における trizepatide 導入前後の Continuous Glucose Monitoring の結果を解析し、高齢者糖尿病治療における trizepatide の有用性を明らかとした。

主任研究者

徳田 治彦 国立長寿医療研究センター 代謝・内分泌研究部（部長）
分担研究者
大村 卓也 国立長寿医療研究センター 代謝・内分泌研究部（副部長）
(2023年度のみ)

研究期間 2021年4月1日～2024年3月31日

A. 研究目的

骨代謝は骨吸収を担う破骨細胞と骨形成を担う骨芽細胞により活発に営まれ、骨は絶えずリモデリングされ、その強度が維持されている。二つの機能細胞は、種々のサイトカイン、細胞増殖因子、オートコイド等の生理活性物質により巧緻に制御されている。骨のリモデリングの破綻が骨粗鬆症および骨折治癒の遅延の原因となると考えられている。最近、骨表面の骨芽細胞に隣接し存在する骨マクロファージにより産生される炎症性サイトカインである oncostatin M が骨損傷動物モデルにおいてその治癒を促進することが報告され(Guihard P *et al.*, Am. J. Pathol. 2015;185:765-775)、現在では骨マクロファージが、骨リモデリングの制御に重要な役割を果たしていると考えられている。しかしながらその制御機構の詳細は未だ明らかにされていない。私共は、骨芽細胞培養系を用いて種々の骨代謝調節因子による骨芽細胞の機能の制御機構について検討し、多くの新知見を報告してきた。最近では、骨リモデリングの過程における骨芽細胞の骨吸収部位への移動(migration)の重要性に注目し、その制御機構の詳細を検討している。そして、経口摂取による食事に伴い小腸から分泌され、膵ランゲルハンス島 β 細胞からのインスリン分泌を促進するインクレチンは血小板由来増殖因子(PDGF)-BB 刺激による骨芽細胞の migration を増強すること(Kawabata T *et al.*, Sci. Rep. 2020;10:2341)、一方、senolytics の候補として知られるストレス蛋白質(HSP)90 阻害薬は PDGF-BB による migration を抑制すること(Kawabata T *et al.*, Biomedical Res. 2019;40:169-178)を明らかとしている。

本研究は、培養骨芽細胞を用いて、マクロファージにより産生されるサイトカイン・ケモカインの骨芽細胞機能に及ぼす影響を詳細に解析することにより、骨マクロファージによる骨代謝・骨リモデリング制御機構、特に骨芽細胞との相互作用を解明するもので、骨粗鬆症や骨折治癒の遅延など高齢期の代謝性骨疾患の新たな治療法開発の一助とすることを目的としている。加えて最終年度より、高齢者糖尿病データベースの構築を開始し、コホート研究に資することとしている。30年におよぶ一連の研究成果を基に遂行するもので、極めて独創性が高い。

B. 研究方法

(1) 培養骨芽細胞を用いた骨代謝（骨リモデリング）制御機構の解明

新生仔マウス頭蓋冠より分離・株化された骨芽細胞様 MC3T3-E1 細胞およびヒト由来骨芽細胞 (NH0st) を培養し、oncostatin M、植物由来ポリフェノール (hydroxytyrosol、oleuropein、レスベラトロール)、SRT1720、インクレチン [glucose-dependent insulintropic polypeptide (GIP)、glucagon-like peptide-1 (GLP-1)]、selective estrogen receptor modulator (SERM) (raloxifene、bazedoxifene)、トラマドール、レボキセチン、フルボキサミン、geldanamycin、onalespib、VER-155008 および YM-08 を作用させた後に、transforming growth factor- β (TGF- β)、tumor necrosis factor- α (TNF- α)、basic fibroblast growth factor (bFGF)、prostaglandin (PG)D₂、PGF₂ α 、epidermal growth factor (EGF) および PGE₁ で刺激した。刺激後の macrophage colony-stimulating factor (M-CSF)、osteoprotegerin (OPG) および interleukin-6 (IL-6) 遊離は、培養上清中の M-CSF、OPG、IL-6 濃度を ELISA にて測定し検討した。M-CSF、OPG、IL-6 の mRNA 発現レベルは、RT-PCR 法にて検討した。Migration は Boyden chamber 法および Wound healing 法にて検討した。細胞質画分中の p44/p42 mitogen-activated protein (MAP) kinase、p38 MAP kinase、stress-activating protein kinase/c-Jun N terminal kinase (SAPK/JNK)、Akt、p70 S6 kinase および SMAD3 のリン酸化は Western blot 法にて検討した。また一部の実験においては、SIS3、SB203580、PD98059、SP600125、rapamycin、deguerin、wedelolactone、inauhzin、PPT、MPP、ナロキソンおよびモルフィンによる前処置を行った。

(2) 糖尿病コホートの構築および臨床的解析

2023 年度より当センター代謝内科に入院・通院している 65 歳以上の糖尿病患者を対象に、生活機能質問票 (Daily Function Score-8、以下 DAFS-8) を用いて高齢者糖尿病の血糖コントロール目標におけるカテゴリー分類を行った。また、低血糖や大きな血糖変動が示唆される症例に対して持続グルコースモニター (Continuous Glucose Monitoring、以下 CGM) を行った。これらの症例をデータベース (database、以下 DB) に登録した。

DB には、カテゴリー、年齢、性別、身長、体重、HbA_{1c} 値、使用薬剤等のデータを入力し、カテゴリーごとに CGM 指標を中心にデータを比較検討した。CGM を実施した症例の中で、骨格筋指数 (Skeletal Muscle mass Index, SMI)・骨密度を測定している症例では、カテゴリーとの関連を比較した。また、一部の糖尿病治療薬について、投与前後の CGM 指標を比較検討した。統計解析ソフトは SPSS (ver. 29.0.1.0, IBM corp, Armonk, NY) を使用し、P 値が 0.05 未満を有意水準とした。

臨床研究の実施に当たっては、「ヘルシンキ宣言」および「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」を遵守した。本研究は、国立長寿医療研究センター倫理・利益相

反委員会において「高齢者糖尿病のエビデンス構築に向けた探索的観察研究（1724）」として承認された。

C. 研究結果

（1）培養骨芽細胞を用いた骨代謝（骨リモデリング）制御機構の解明

1-1）Oncostatin M の M-CSF 産生に対する抑制作用

- Oncostatin M は TGF- β 刺激、TNF- α 刺激および bFGF 刺激により惹起される M-CSF の遊離および mRNA 発現を抑制した。
- SMAD3 阻害剤である SIS3、p38 MAP kinase 阻害剤である SB203580、MEK1 阻害剤である PD98059 および SAPK/JNK 阻害剤である SP600125 は TGF- β 刺激に対する M-CSF 遊離を抑制した。
- SB203580 および SP600125 は bFGF 刺激に対する M-CSF 遊離を抑制したが、PD98059 は何ら影響しなかった。
- Oncostatin M は TGF- β 刺激により惹起される p44/p42 MAP kinase および SAPK/JNK のリン酸化を抑制したが、SMAD3 あるいは p38 MAP kinase のリン酸化に影響しなかった。
- Oncostatin M は bFGF 刺激により惹起される p38 MAP kinase のリン酸化を増強したが、SAPK/JNK のリン酸化を抑制した。一方、p44/p42 MAP kinase のリン酸化に影響しなかった。
- mTOR/p70 S6 kinase 阻害薬である rapamycin は TNF- α 刺激に対する M-CSF 遊離に影響しなかった。
- Oncostatin M は TNF- α 刺激に対する Akt および p44/p42 MAP kinase のリン酸化を抑制したが、p70 S6 kinase のリン酸化には何ら影響しなかった。

1-2）Oncostatin の OPG 産生に対する増強作用

- Oncostatin M は PGD2 刺激および bFGF 刺激により惹起される OPG の遊離および mRNA 発現を増強した。また、PGD2 刺激による IL-6 の遊離および mRNA 発現を増強した。
- Oncostatin M は bFGF 刺激により惹起される p38 MAP kinase のリン酸化を増強した。
- Oncostatin M は PGD2 刺激により惹起される p38 MAP kinase、p44/p42 MAP kinase および SAPK/JNK のリン酸化に何ら影響しなかった。
- Oncostatin M による bFGF 刺激により惹起される OPG 産生の増強作用は、SB203580 により抑制された。

1-3）オリーブオイル由来のポリフェノールによる TNF- α 刺激に対する M-CSF および IL-6 の産生抑制作用

- Hydroxytyrosol および oleuropein は TNF- α 刺激に対する M-CSF の遊離、mRNA 発現および IL-6 の遊離、mRNA 発現を抑制した。
- Hydroxytyrosol および oleuropein は TNF- α 刺激により惹起される p44/p42 MAP

kinase および Akt のリン酸化を抑制したが、NF- κ B のリン酸化に影響しなかった。

- TNF- α 刺激による M-CSF 遊離は Akt 阻害剤である deguerin により抑制されたが、PD98059 は何ら影響しなかった。
- TNF- α 刺激による IL-6 遊離は I κ -B 阻害剤である wedelolactone により増強された。

1-4) レスベラトロールによる bFGF 刺激により惹起される M-CSF 産生に対する抑制作用

- bFGF 刺激は M-CSF の遊離および mRNA 発現を促進した。
- レスベラトロールおよび sirtuin 1 (SIRT1) の活性化物質である SRT1720 は bFGF 刺激による M-CSF 産生を抑制した。
- SIRT1 の阻害剤である inauhizin は、bFGF 刺激により惹起される M-CSF mRNA 発現に対するレスベラトロールの抑制作用を解除した。
- Deguelin および phosphatidylinositol 3-kinase (PI3-kinase) の阻害剤である LY294002 は、bFGF 刺激により惹起される M-CSF 産生を抑制した。
- Inauhizin は、bFGF 刺激により惹起される Akt リン酸化に対するレスベラトロールの抑制作用を解除した。

1-5) インクレチンによる PGF2 α 刺激に対する IL-6 産生および OPG 産生増強作用

- インクレチン (GIP、GLP-1) は PGF2 α 刺激に対する IL-6 産生および OPG 産生を増強した。
- GIP および GLP-1 は PGF2 α 刺激により惹起される p44/p42 MAP kinase、p38 MAP kinase および SAPK/JNK のリン酸化に何ら影響しなかった。

1-6) 骨粗鬆症治療薬 SERM の TGF- β 刺激による M-CSF 産生に対する抑制作用

- Raloxifene および bazedoxifene は TGF- β 刺激に対する M-CSF の遊離および mRNA 発現を抑制した。
- エストロゲン受容体 (ER) α アゴニストである PPT は TGF- β 刺激による M-CSF 遊離を抑制したが、ER β アゴニストである ERB041 は影響しなかった。
- ER α アンタゴニストである MPP は、TGF- β 刺激による M-CSF 遊離に対する raloxifene の抑制作用を解除した。
- Raloxifene は TGF- β 刺激により惹起される SAPK/JNK のリン酸化を抑制したが、SMAD3、p44/p42 MAP kinase あるいは p38 MAP kinase のリン酸化に影響しなかった。
- MPP は TGF- β 刺激により惹起される SAPK/JNK のリン酸化に対する raloxifene および bazedoxifene の抑制作用を解除した。

1-7) 鎮痛剤トラマドールの PGD2 刺激による OPG 産生に対する増強作用

- トラマドールは PGD2 刺激に対する OPG の遊離および mRNA 発現を増強した。
- μ -オピオイド受容体 (MOR) 阻害剤であるナロキソンは、トラマドールによる PGD2

刺激に対する OPG 遊離増強作用を減弱した。

- selective noradrenalin reuptake inhibitor (SNRI)であるレボキセチンは PGD2 刺激に対する OPG 遊離増強作用に何ら影響しなかった。
- selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI)であるフルボキサミンおよびセルトラリンは、PGD2 刺激による OPG 遊離を増強した。この作用はモルフィンによりさらに増強された。
- ترامadolは PGD2 刺激により惹起される p38 MAP kinase および SAPK/JNK のリン酸化を増強したが、p44/p42 MAP kinase のリン酸化に何ら影響しなかった。
- SB203580 および SP600125 は ترامadolによる PGD2 刺激に対する OPG 遊離増強作用を抑制した。

1-8) Heat shock protein(HSP)90 阻害剤の EGF 刺激に対する migration への抑制作用

- EGF 刺激による migration は、HSP90 阻害剤である geldanamycin あるいは onalespib により抑制された。
- geldanamycin および onalespib は EGF 刺激により惹起される p44/p42 MAP kinase のリン酸化を抑制したが、p38 MAP kinase および Akt のリン酸化に何ら影響しなかった。
- geldanamycin および onalespib は EGF 刺激により惹起される SAPK/JNK のリン酸化を増強したが、protein kinase-like endoplasmic reticulum kinase のリン酸化には影響しなかった。

1-9) HSP70 阻害剤の PGE1 刺激に対する IL-6 産生への増強作用

- PGE1 刺激による IL-6 遊離及び IL-6 mRNA 発現は、HSP70 阻害剤である VER-155008 により増強された。
- SB203580 は PGE1 刺激による IL-6 遊離を抑制したが、PD98059 あるいは SP600125 は抑制しなかった。
- VER-155008 とは構造の異なる HSP70 阻害剤である YM-08 は、PGE1 刺激により惹起される IL-6 の遊離および p38 MAP kinase のリン酸化を増強した。
- SB203580 は PGE1 刺激による IL-6 の遊離に対する YM-08 の増強作用を抑制した。

(2) 高齢者糖尿病コホートの構築および臨床的解析

185 例にカテゴリー分類を行った。全体の平均年齢は 78 (±6.4) 歳、男性は 109 名 (59%)、平均 HbA1c は 7.8 (±1.4) %であった。カテゴリー I に分類された例は 103 例であり、平均年齢は 77 (±5.4) 歳、男性は 65 名、平均 HbA1c は 7.8 (±1.5) %であった。カテゴリー II に分類された例は 50 例で、平均年齢は 78 (±7.0) 歳、男性は 34 名、平均 HbA1c は 7.8 (±1.2) %であった。カテゴリー III に分類されたのは 32 例で、平均年齢は 83 (±5.9) 歳、男性は 10 名、平均 HbA1c は 8.0 (±1.5) %であった。カテゴリーが進む毎に平均年齢は高くなり、また HbA1c 値も高値になる傾向があ

った。次に、カテゴリー毎に定められた HbA1c のコントロール目標の範囲内か範囲外かを評価した。カテゴリー I の例の 45.6%、II の例の 36.0%、III の例の 50.0% が管理目標内であり、カテゴリー II において、目標の達成割合が最も低値であった。

CGM については、2023 年 3 月末までに 96 例に実施した。短期間で測定を中断した症例とセンサートラブルのあった症例を除外し、84 例の有効データを取得した。全体の平均年齢は 80 (±5.4) 歳、男性は 49 名 (61%)、平均 HbA1c は 7.9 (±1.3) % であった。CGM 実施症例におけるカテゴリー I、II、III の割合はそれぞれ、43 例 (51.2%)、26 例 (31.0%)、15 例 (17.9%) であった。

また、CGM を実施した症例のうち、32 例で骨塩定量検査を実施しており、男女比、年齢、骨密度 (腰椎)、骨密度 (大腿骨)、骨格筋指数 (SMI) の基準値から差の平均値は、それぞれ 59.4%、81 (±5.3) 歳、1.231 (±0.285) g/cm²、0.804 (±0.141) g/cm²、-0.37 (±0.85) kg/m² であった。また、カテゴリー毎のサブ解析の結果では、カテゴリーと骨密度 (大腿骨) には負の相関があり (p=0.027)、カテゴリーの進行とともに骨密度は低下した。

薬剤と CGM 指標との関連についても検討した。2023 年度に新規 GIP/GLP-1 受容体作動薬 (チルゼパチド) が本邦で上市されたが、わが国の高齢患者では、本剤の使用経験の報告が少ないことから、CGM を実施したデータを用いて、チルゼパチドと CGM 指標との関連を 4 例で解析した。対象の平均年齢は 79.5 歳、平均 BMI は 24.6 kg/m² であった。チルゼパチド投与直後から高血糖は著明に改善し、TIR、TAR はそれぞれ、53.2% から 78.9% (standard deviation [SD] : 18.2%, p=0.041)、45.8% から 19.7% (SD : 18.6%, p=0.038) に改善し、TBR は 1.0% から 1.5% (SD : 1.5%, p=0.206) であった。

D. 考察と結論

骨芽細胞において、oncostatin M は TGF- β 、TNF- α および bFGF 刺激により惹起される M-CSF 産生を抑制することが明らかとなった。一方、その機序はそれぞれ相違が見られ、即ち TGF- β 刺激時においては p44/p42 MAP kinase および SAPK/JNK の活性化を、TNF- α 刺激時においては Akt および p44/p42 MAP kinase の活性化を、bFGF 刺激時においては SAPK/JNK の活性化をそれぞれ抑制的に制御し、M-CSF 産生を抑制していると考えられた。また、oncostatin M は bFGF および PGD2 刺激により惹起される OPG 産生を抑制することが明らかとなった。その機序は M-CSF 産生におけると同じように相違しており、bFGF 刺激時においては p38 MAP kinase の活性化を抑制的に制御することが関与するが、PGD2 刺激時においては、その作用点は p38 MAP kinase、p44/p42 MAP kinase および SAPK/JNK のいずれの上流でもないことが示唆された。骨芽細胞より産生・遊離される M-CSF は、骨芽細胞上に発現される receptor activator of NF- κ B (RANK) ligand

と協働して、マクロファージから骨吸収機能を有する成熟破骨細胞への分化の過程において極めて重要な役割を果たしている。一方、骨芽細胞より産生・遊離される OPG は RANK の decoy 受容体として、RANK ligand の作用を抑制する。従って、今回明らかとした oncostatin の作用は、骨芽細胞の機能制御を介して骨吸収活性を巧緻に制御していることを示す、重要な知見である。さらに、その機序は各種の骨芽細胞調節因子によりそれぞれ相違がみられ、骨リモデリングの過程において、その状況に即した巧妙な制御が遂行されることが示唆された。

植物由来ポリフェノールは、その抗酸化作用による抗老化効果が注目されている。本研究では、骨芽細胞においてオリーブオイル由来のポリフェノールである hydroxytyrosol および oleuropein が、TNF- α による M-CSF 産生および IL-6 産生を抑制すること、その機序として p44/p42 MAP kinase と Akt の上流における抑制的制御によることが示された。また、赤ワインに豊富に含まれるレスベラトロールが、bFGF 刺激による PI3-kinase/Akt 活性化の抑制を介して M-CSF 産生を抑制しており、その作用は SIRT1 を介することを明らかとした。前述のように M-CSF は骨リモデリングに対して抑制的に作用すると考えられる。一方 IL-6 は骨リモデリングが亢進した状況では osteotropic に作用することが知られているが、一般には骨吸収を促進すると考えられる。従って、M-CSF 産生抑制と共同する IL-6 産生の抑制は、骨吸収に対し抑制的に作用すると考えられる。今回の知見は、植物由来ポリフェノールの有する抗老化効果としての新たな根拠となる。一方、経口摂取に際して小腸細胞より分泌されインスリン分泌を促進するインクレチンは PGF2 α 刺激に対する IL-6 産生および OPG 産生を増強すること、これらの作用は p44/p42 MAP kinase、p38 MAP kinase あるいは SAPK/JNK を介するものではなく、その下流で作用する可能性が示唆された。PGF2 α 刺激は骨リモデリングを活性化するため、IL-6 産生と共同する OPG 産生の増強は、総じて osteotropic に作用すると考えられる。従って本知見は、骨リモデリングの適正化における経口摂取の重要性を細胞レベルで明らかにしたものと考えられる。

SERM のうち骨粗鬆症治療に広く用いられる raloxifene および bazedoxifene は、ER のうち ER α を介した SAPK/JNK 経路の抑制により、TGF- β 刺激に対する M-CSF 産生を抑制することが示唆された。この機序は、前述した oncostatin M の TGF- β 刺激に対する M-CSF 産生の抑制機序と一部共通していることから、SERM は骨リモデリング活性化時に、osteal macrophage に由来する oncostatin M と協働して破骨細胞活性化を抑制しうると考えられる。一方、鎮痛剤であるトラマドールは、PGD2 刺激に対する OPG 産生を増強し、その作用は MOR 活性化とセロトニントランスポーターの阻害を介し、p38 MAP kinase および SAPK/JNK の上流において発揮されることが示唆された。既に記載したように、OPG は RANK ligand/RANK の抑制により骨吸収活性を抑制することから、トラマドールは骨粗鬆症の管理において、鎮痛作用に加えて骨代謝制御においても有用である可能性がある。SSRI もその作用機序の一部がトラマドールと共通しており、PGD2 刺激に

よる OPG 抑制作用を有することから、これら薬剤の新しい作用機序として、臨床的に大いなる注目に値すると考えられる。さらに HSP90 阻害剤は EGF 刺激に対する migration を抑制し、その作用点は p44/p42 MAP kinase の上流であると考えられた。骨芽細胞の migration 抑制は、骨形成が同一箇所でも長期に阻害される可能性を示唆しており、HSP90 阻害剤の骨形成調節薬としての可能性が期待される。また、HSP70 阻害剤は PGE1 刺激により惹起される IL-6 産生を増強し、その作用は p38 MAP kinase 活性化の増強を介することが強く示唆された。前述のとおり、IL-6 は骨リモデリングの活性化された状況において osteotropic に作用すると考えられており、抗腫瘍薬として開発された HSP70 阻害剤が、骨代謝調節薬としても有用である可能性が期待される。

高齢者糖尿病において、身体機能と認知機能の維持に資する糖尿病治療の実践と開発にむけて DB 作成に着手した。代謝内科通院中の糖尿病患者では、カテゴリ-I が最多で (56%)、II (27%)、III (17%) と続いた。「高齢者糖尿病の血糖管理目標 (HbA1c 値)」で示された管理目標よりも HbA1c 値が高く管理されている症例が多く含まれており、低血糖を回避するという治療戦略が反映された結果と考えられた。

一方で、CGM で評価すると、TAR 指標の割合はさほど高くなかった。従って、HbA1c 値からは高血糖状態で管理されているように見えるが、比較的“質の高い血糖管理”が実践できている可能性が示唆された。今後、TAR と TBR の割合をさらに減少させていくことを前提に、HbA1c と CGM 指標で評価した管理状況の乖離について、使用薬剤、患者背景などに基づいて詳細に解析していくことが、当面の課題と考える。

また、今回の解析では、カテゴリ分類が骨密度低下の予測因子となる可能性が示された。老化指標とカテゴリとの関連を今後さらに解析していく予定である。

2023 年度に新規 GIP/GLP-1 受容体作動薬 (チルゼパチド) が本邦で上市されたことから、GIP/GLP-1 受容体作動薬の高齢患者での CGM 指標への影響を検討した (Omura, Tokuda, *et al.*, *Geriatrics*, 2023;8:100)。チルゼパチド投与は、肥満の程度がそれほど強くないアジア人の高齢患者においても、投与早期から強い血糖改善作用を示すこと、そのことにより併用する内服薬やインスリン注射の回数が減少し、減薬や治療の単純化につながる場合があることが明らかとなった。近年上市されたその他の薬剤についても、CGM 指標や長期治療成績との関連を詳細に解明することが重要な課題である。現在、DB の拡充を図るとともに、より具体的なリサーチクエスションの設定に着手している。

以上、骨芽細胞において oncostatin M、植物由来ポリフェノールおよびインクレチン、SERM およびトラマドールによる M-CSF 産生、OPG 産生あるいは IL-6 産生への影響およびその分子機序を明らかとし、oncostatin M と協働して骨リモデリングを制御しうる可能性を示唆した。本研究により、高齢期の代謝性骨疾患における病態制御およびその解明に資する、重要な新知見を得ることができた。また、糖尿病コホートの構築を開始するとともに、CGM を用いた血糖変動解析により高齢者糖尿病治療におけるチルゼ

パチドの有用性を明らかとした。今後、骨粗鬆症やサルコペニアをはじめとする高齢期のフレイルの病態解明に資することが期待される。

E. 健康危険情報

なし。

F. 研究発表

1. 論文発表

2021年度

- 1) Tachi J, Onuma T, Yamaguchi S, Kim W, Hioki T, Matsushima-Nishiwaki R, Tanabe K, Tokuda H, Kozawa O, Iida H. Duloxetine suppresses BMP-4-induced release of osteoprotegerin via inhibition of the SMAD signaling pathway in osteoblasts. *Biochem. Cell. Biol.* 2021;99(5):578-586.
- 2) Kim W, Tokuda H, Tanabe K, Yamaguchi S, Hioki T, Tachi J, Matsushima-Nishiwaki R, Kozawa O, Iida H. Acetaminophen reduces osteoprotegerin synthesis stimulated by PGE₂ and PGF_{2α} in osteoblasts: Attenuation of SAPK/JNK but not p38 MAPK or p44/p42 MAPK. *Biomed. Res.* 2021;42(2):77-84.
- 3) Hioki T, Tokuda H, Kuroyanagi G, Kim W, Tachi J, Matsushima-Nishiwaki R, Iida H, Kozawa O. Olive polyphenols attenuate TNF- α -stimulated M-CSF and IL-6 synthesis in osteoblasts: Suppression of Akt and p44/p42 MAP kinase signaling pathways. *Biomed. Pharmacother.* 2021;141:111816.
- 4) Hioki T, Tokuda H, Tanabe K, Kim W, Tachi J, Yamaguchi S, Matsushima-Nishiwaki R, Kozawa O, Iida H. Amplification by tramadol of PGD₂-induced osteoprotegerin synthesis in osteoblasts: Involvement of m-opioid receptor and 5-HT transporter. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.* 2021;172:102323.
- 5) Hioki T, Kuroyanagi G, Fujita K, Sakai G, Kawabata T, Kim W, Tachi J, Matsushima-Nishiwaki R, Iida H, Kozawa O, Tokuda H. Incretins enhance PGF_{2α}-induced synthesis of IL-6 and osteoprotegerin in osteoblasts. *Horm. Metab. Res.* 2022;54(1):42-49.
- 6) Mizutani D, Tokuda H, Onuma T, Uematsu K, Nakashima D, Ueda K, Doi T, Enomoto Y, Matsushima-Nishiwaki R, Ogura S, Iida H, Kozawa O, Iwama T.

Amyloid β protein negatively regulates human platelet activation induced by thrombin receptor-activating protein. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2022;86(2):185-198.

2022年度

- 1) Kuroyanagi G, Tokuda H, Fujita K, Kawabata T, Sakai G, Kim W, Hioki T, Tachi J, Matsushima-Nishiwaki R, Otsuka T, Iida H, Kozawa O. Upregulation of TGF- β -induced HSP27 by HSP90 inhibitors in osteoblasts. *BMC Musculoskelet Disord.* 2022;23(1):495.
- 2) Doi T, Hori T, Onuma T, Mizutani D, Ueda K, Enomoto Y, Matsushima-Nishiwaki R, Tanabe K, Hioki T, Tokuda H, Iwama T, Iida H, Kozawa O, Ogura S. Thrombopoietin and collagen in low doses cooperatively induce human platelet activation. *Acute. Med. Surg.* 2022;9(1):e769.
- 3) Kuroyanagi G, Kawabata T, Tokuda H, Fujita K, Matsushima-Nishiwaki R, Sakai G, Tachi J, Hioki T, Kim W, Iida H, Otsuka T, Kozawa O. Attenuation by HSP90 inhibitors of EGF-elicited migration of osteoblasts: involvement of p44/p42 MAP kinase. *Connect. Tissue Res.* 2022;63(4):359-369.
- 4) Hori T, Mizutani D, Onuma T, Okada Y, Kojima K, Doi T, Enomoto Y, Iida H, Ogura S, Sakurai T, Iwama T, Kozawa O, Tokuda H. Relationship between the responsiveness of amyloid β protein to platelet activation by TRAP stimulation and brain atrophy in patients with diabetes mellitus. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23(22):14100.
- 5) Hioki T, Matsushima-Nishiwaki R, Tokuda H, Kozawa O. Selective estrogen receptor modulators, acting as agonists of estrogen receptor α in osteoblasts, reduce the TGF- β -induced synthesis of macrophage colony-stimulating factor via inhibition of JNK signaling pathway. *Biomed. Res.* 2022;43(6):211-221.
- 6) Doi T, Hioki T, Tachi J, Ueda K, Matsushima-Nishiwaki R, Iida H, Ogura S, Kozawa O, Tokuda H. Oncostatin M reduces the synthesis of macrophage colony-stimulating factor stimulated by TGF- β via suppression of p44/p42 MAP kinase and JNK in osteoblasts. *Biomed. Res.* 2022;43(2):41-51.
- 7) Kuroyanagi G, Tachi J, Fujita K, Kawabata T, Sakai G, Nakashima D, Kim W, Tanabe K, Matsushima-Nishiwaki R, Otsuka T, Iida H, Kozawa O, Tokuda H. HSP70 inhibitors upregulate prostaglandin E_1 -induced synthesis of interleukin-6 in osteoblasts. *PLoS One.* 2022;17(12):e0279134.
- 8) Iida H, Onuma T, Nakashima D, Mizutani D, Hori T, Ueda K, Hioki T, Kim W, Enomoto Y, Doi T, Matsushima-Nishiwaki R, Yamaguchi S, Tachi J, Tanabe K,

Ogura S, Iwama T, Kozawa O, Tokuda H. Tramadol regulates the activation of human platelets via Rac but not Rho/Rho-kinase. *PLoS One*. 2023;18(1):e0279011.

- 9) Hioki T, Kuroyanagi G, Matsushima-Nishiwaki R, Kozawa O, Tokuda H. Oncostatin M attenuates tumor necrosis factor- α -induced synthesis of macrophage colony-stimulating factor via suppression of Akt in osteoblasts. *Connect. Tissue Res*. 2023;64(2):139-147.

2023年度

- 1) Li J, Nakagawa T, Kojima M, Nishikimi A, Tokuda H, Nishimura K, Umezawa J, Tanaka S, Inoue M, Ohmagari N, Yamaguchi K, Takeda K, Yamamoto S, Konishi M, Miyo K, Mizoue T. Underlying medical conditions and anti-SARS-CoV-2 spike IgG antibody titers after two doses of BNT162b2 vaccination: A cross-sectional study. *PLoS One*. 2023;18(4):e0283658.
- 2) Kuroyanagi G, Hioki T, Tachi J, Matsushima-Nishiwaki R, Iida H, Kozawa O, Tokuda H. Oncostatin M stimulates prostaglandin D₂-induced osteoprotegerin and interleukin-6 synthesis in osteoblasts. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*. 2023;192:102575.
- 3) Enomoto Y, Onuma T, Hori T, Tanabe K, Ueda K, Mizutani D, Doi T, Matsushima-Nishiwaki R, Ogura S, Iida H, Iwama T, Kozawa O, Tokuda H. Synergy by ristocetin and CXCL12 in human platelet activation: Divergent regulation by Rho/Rho kinase and Rac. *Int. J. Mol. Sci*. 2023;24(11):9716.
- 4) Kuroyanagi G, Hioki T, Tachi J, Matsushima-Nishiwaki R, Iida H, Tokuda H, Kozawa O. Resveratrol inhibits basic fibroblast growth factor-induced macrophage colony-stimulating factor synthesis via the PI3-kinase/Akt pathway in osteoblasts. *Biosci. Biotech. Biochem*. 2023;87(12):1462-1469.
- 5) Sugimoto T, Tokuda H, Miura H, Kawashima S, Omura T, Ando T, Kuroda Y, Matsumoto N, Fujita K, Uchida K, Kishino Y, Sakurai T. Longitudinal association of continuous glucose monitoring-derived metrics with cognitive decline in older adults with type 2 diabetes: A 1-year prospective observational study. *Diabetes Obes. Metab*. 2023;25(12):3831-3836.
- 6) Kuroyanagi G, Hioki T, Matsushima-Nishiwaki R, Kozawa O, Tokuda H. HSP70 inhibitor amplifies the bFGF-induced release of IL-6 in osteoblasts. *Mol. Med. Rep*. 2023;28(6):230.
- 7) Hioki T, Tachi J, Ueda K, Matsushima-Nishiwaki R, Iida H, Kozawa O, Tokuda H. Oncostatin M enhances osteoprotegerin synthesis but reduces macrophage colony-stimulating factor synthesis in bFGF-stimulated osteoblast-like cells.

Exp. Ther. Med. 2023;27(1):34.

- 8) Omura T, Katsumi A, Kawashima S, Naya M, Tokuda H. Prolonged COVID-19 infection in a patient with complete remission from follicular lymphoma with hyperosmolar hyperglycemic syndrome. *Geriatrics*. 2023;8(6):110.
- 10) Kawai Y, Watanabe Y, Omae Y, Miyahara R, Khor S, Noiri E, Kitajima K, Shimanuki H, Gatanaga H, Hata K, Hattori K, Iida A, Ishibashi-Ueda H, Kaname T, Kanto T, Matsumura R, Miyo K, Noguchi M, Ozaki K, Sugiyama M, Takahashi A, Tokuda H, Tomita T, Umezawa A, Watanabe H, Yoshida S, Goto Y, Maruoka Y, Matsubara Y, Niida S, Mizokami M, Tokunaga K. Exploring the genetic diversity of the Japanese population: Insights from a large-scale whole genome sequencing analysis. *PLoS Genet*. 2023;19(12):e1010625.
- 11) Tokuda H, Hori T, Mizutani D, Hioki T, Kojima K, Onuma T, Enomoto Y, Doi T, Matsushima-Nishiwaki R, Ogura S, Iida H, Iwama T, Sakurai T, Kozawa O. Inverse relationship between platelet Akt activity and hippocampal atrophy: A pilot case-control study in patients with diabetes mellitus. *World J. Clin. Cases*. 2024;12(2):302-313.
- 12) Omura T, Inami A, Sugimoto T, Kawashima S, Sakurai T, Tokuda H. Tirzepatide and glycemic control metrics using continuous glucose monitoring in older patients with type 2 diabetes mellitus: An observational pilot study. *Geriatrics*. 2024;9(2):27.
- 13) Sugimoto T, Sakurai T, Uchida K, Kuroda Y, Tokuda H, Omura T, Noguchi T, Komatsu A, Nakagawa T, Fujita K, Matsumoto N, Ono R, Crane P, Saito T. Impact of type 2 diabetes and glycosylated hemoglobin levels within the recommended target range on mortality in older adults with cognitive impairment receiving care at a Memory clinic:NCGG-STORIES. *Diabetes Care*. 2024;47(5):864-872.
- 14) Kamihara T, Tabuchi M, Omura T, Suzuki Y, Aritake T, Hirashiki A, Kokubo M, Shimizu A. Evolution of a large language model for preoperative assessment based on the Japanese circulation society 2022 guidelines on perioperative cardiovascular assessment and management for noncardiac surgery. *Circulation Reports*. 2024;6(4):142-148.
- 15) Osuka Y, Kojima N, Daimaru K, Ono R, Sugie M, Omura T, Motokawa K, Ueda T, Maruo K, Aoyama T, Inoue S, Sasai H. Effects of Radio-Taiso on health-related quality of life in older adults with frailty: A randomized controlled trial. *J. Epidemiol*. Online ahead of print.
- 16) 大村卓也, 徳田治彦. 糖尿病と認知症 認知機能の評価法. *Progress in Medicine*. 2023;43(12):1097-1102.

- 17) 徳田治彦. 高齢化社会に向けた人間ドック・健診の取り組み. 臨床検査. 2024;68(1):6-12.
- 18) 大村卓也, 櫻井孝. 運動と認知機能について. べんちのーと. 2024;133(34):12-13.

2. 学会発表

2021年度

なし

2022年度

なし

2023年度

- 1) 杉本大貴, 佐治直樹, 中村昭範, 徳田治彦, 三浦久幸, 川嶋修司, 安藤貴史, 黒田佑次郎, 松本奈々恵, 藤田康介, 内田 彰, 岸野義信. 高齢者2型糖尿病における持続血糖モニタリングによって評価した血糖指標と脳小血管病との関連. 第66回日本糖尿病学会年次学術集会. 2023年5月12日. 鹿児島市
- 2) 杉本大貴, 徳田治彦, 三浦久幸, 川嶋修司, 安藤貴史, 黒田佑次郎, 松本奈々恵, 藤田康介, 内田 彰, 櫻井 孝. 持続血糖モニタリングによって評価した血糖指標と認知機能低下との関連: 一年間の前向き観察研究. 第65回日本老年医学会学術集会. 2023年6月18日. 横浜市.
- 3) 大村卓也. 高齢糖尿病患者における「カテゴリー分類の推移」の解析. 第10回日本糖尿病協会年次学術集会. 2023年7月22日. 京都市
- 4) Kono M, Omura T, Mori S, Kurihara S, Koseki H, Shigemoto K. Development of an in vitro analysis system for type transition and the metabolic changes in muscle fibers. IAGG Asia/Oceania Regional Congress 2023. 2023年6月12日. 横浜市.
- 5) Omura T, Fukunaga T, Noda Y, Kono M, Fujita Y, Ohsawa I, Shigemoto K. Discovery of changes in mitochondrial function and morphology with muscle aging. IAGG Asia/Oceania Regional Congress 2023. 2023年6月13日. 横浜市.
- 6) Osuka Y, Kojima N, Daimaru K, Ono R, Sugie M, Omura T, Ueda T, Maruo K, Inoue S, Sasai H. Effects of the Japanese National Health Exercise (Radio-Taiso) on healthrelated quality of life and physical fitness in older adults with frailty: A randomized controlled trial. IAGG Asia/Oceania Regional Congress 2023. 2023年6月14日. 横浜市.
- 7) 大村卓也, 徳田治彦, 川嶋修司, 田中颯, 三浦久幸. GIP/GLP 受容体作動薬チルゼパチドと Time in Range: 当科での3例の検討. 第34回日本老年医学会東海地方会. 2023年10月21日. 名古屋市.
- 8) 山崎栄晴, 田口大輔, 新美佳奈, 高橋渚, 植田郁恵, 野辺由美, 真野滯, 前田篤

史，伊藤直樹，川嶋修司，徳田治彦、加賀谷齊．多職種の協働介入によって自宅退院が可能となった認知症を合併した糖尿病患者の1例．第77回国立病院総合医学会．2023年10月21日．広島市．

- 9) 岡崎洋樹，大村卓也，川嶋修司，南谷昌弘，小原史也，勝見章，徳田治彦．高浸透圧性高血糖症候群で発症し COVID-19 遷延感染を呈した完全寛解中の濾胞性リンパ腫の1例．第252回日本内科学会東海地方会．2024年2月18日．岐阜市．

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし