

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年5月28日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K19995

研究課題名(和文)骨代謝修飾薬を組み合わせた骨癒合促進治療法の構築

研究課題名(英文) Treatment for promoting early healing of bone fracture using the combination of anti-osteoporosis drugs

研究代表者

柏井 将文 (KASHII, MASAFUMI)

大阪大学・医学系研究科・招へい教員

研究者番号：00576910

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：単剤で骨折治癒促進効果が示されている骨形成促進薬テリパラチドに抗RANKL抗体を併用することで、骨修復がさらに促進されると我々は仮定し、骨形成促進薬と骨吸収抑制薬の併用による骨欠損修復や骨折治癒への有効性を検討した。

若齢の健常動物および閉経後骨粗鬆症モデル動物において、両剤の併用により単剤よりも海綿骨骨再生が促進された。骨再生部以外の骨組織においても両剤の併用により大幅な骨量増加効果を認めた。

テリパラチドと抗RANKL抗体両剤の併用による相加効果は、海綿骨が豊富な部位である脊椎椎体骨折や骨幹端部骨折に対して短期間に骨折治癒を促進する治療法となる可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

小動物で明らかにされた骨形成促進薬テリパラチドと骨吸収抑制薬抗RANKL抗体の併用による骨欠損修復や骨折治癒への有効性がヒトにおいても示され、ヒトへの応用が可能となれば、著しい骨脆弱性を有する骨折患者のADL/QOL改善や健康寿命延長への寄与が大いに期待できる。また、これらの患者の骨折予防と骨折後の治癒促進が同時に達成されることは、医療費の削減にもつながる。

研究成果の概要(英文)：Our researches were aimed to investigate the combined effects of teriparatide and anti-RANKL antibody on both cancellous and cortical bone healing in both normal healthy and old ovariectomized mice. This combined administration prompted the regeneration of cancellous bone volume, and medullary callus were vigorously formed in the early phase of bone regeneration. The combination therapy of teriparatide and anti-RANKL antibody increases the amount of bone mass in bone tissue except the bone defect area more effectively than the single therapy.

The combined therapy for osteoporotic fractures of spine and metaphysis, which are rich in cancellous bone, has the potential as the ideal agent to prevent subsequent osteoporotic fractures and promoting fracture healing simultaneously.

研究分野：整形外科

キーワード：骨折治癒 骨粗鬆症 テリパラチド 抗RANKL抗体 骨再生 骨強度

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

閉経後骨粗鬆症やステロイド性骨粗鬆症患者においては骨折治癒能力低下が知られている。ゆえに、骨粗鬆症性の新規脆弱性骨折が発生した患者においては二次骨折予防のための骨粗鬆症の治療だけでなく、生じた骨折を出来るだけ短期間に確実に治癒させることも重要な課題である。テリパラチド(Teriparatide : TPTD)は間欠的投与による全身の骨形成促進効果を持ち、骨粗鬆症治療だけでなく骨折治癒促進も期待できる薬剤である。また抗 RANKL(Receptor activator of NF- κ B ligand)抗体は従来のビスフォスフォネート製剤を上回る骨吸収抑制作用を有する薬剤である。近年、骨形成促進作用を持つ TPTD と骨吸収抑制作用を持つ抗 RANKL 抗体を併用することで、各単剤では得られないような大幅な骨量増加と骨折抑制効果が得られるとの報告が近年なされた(Tsai JN et al. Lancet 2013)。

しかしながら、現時点において骨代謝調節薬の併用による詳細な骨量増加のメカニズムは不明のままである。また骨欠損修復や骨折治癒に関してはモデル動物においても検討がなく、併用治療がヒトに応用可能かどうか不明である。単剤で骨折治癒促進効果が示されている TPTD に抗 RANKL 抗体を併用することで、治癒がさらに促進されると我々は仮定した。仮に、骨形成促進薬と骨吸収抑制薬の併用による骨欠損修復や骨折治癒への有効性が明らかとなり、ヒトへの応用が可能となれば、著しい骨脆弱性を有する骨折患者の ADL/QOL 改善や健康寿命延長への寄与が大いに期待できる。

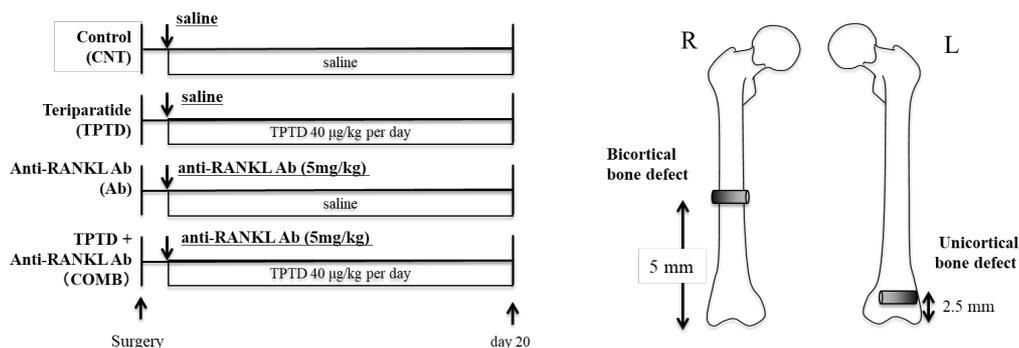
2. 研究の目的

- (1) 若齢の健常動物を用いて、TPTD と抗 RANKL 抗体併用投与による骨再生への効果を、海綿骨再生と皮質骨再生に分けて検討すること。
- (2) 両側の卵巣を摘出し閉経後骨粗鬆症を呈した動物(骨粗鬆症疾患モデル)を用いて、TPTD と抗 RANKL 抗体併用投与による骨再生への効果を、海綿骨再生と皮質骨再生に分けて検討すること。

3. 研究の方法

(1) 若齢の健常動物での検討

複雑な骨折修復過程を海綿骨修復と皮質骨修復に各々分け、各々の骨欠損修復過程における TPTD と抗 RANKL 抗体の併用効果を観察するために、C57BL6N 雌マウス 9 週齢の左大腿骨遠位骨幹端部と右大腿骨骨幹部に骨欠損を作成した。対象群 (CNT 群;11 匹): 生理食塩水 0.1ml 週 5 回投与、テリパラチド群(TPTD 群;11 匹): TPTD 40 μ g/kg/day 週 5 回投与、抗 RANKL 抗体群(Ab 群;11 匹): OYC-1:5mg/kg 単回投与、併用群 (COMB 群;11 匹): TPTD + OYC-1 の 4 群に分けて検討し、薬剤の投与は骨欠損作成後 20 日間継続した。海綿骨の多い骨幹端部では海綿骨の骨修復を、海綿骨がなく皮質骨が主に存在する骨幹部では皮質骨の骨修復を各々評価した。マイクロ CT を用いて骨欠損部の継時的な骨再生の評価を行い、再生骨部の組織学的評価、骨形態計測評価、微小骨強度試験を併施した。骨欠損部以外の骨組織への効果を検証するために、マイクロ CT を用いて脛骨近位部の経時的な骨量変化を検討した。



(2) 閉経後骨粗鬆症モデル動物での検討

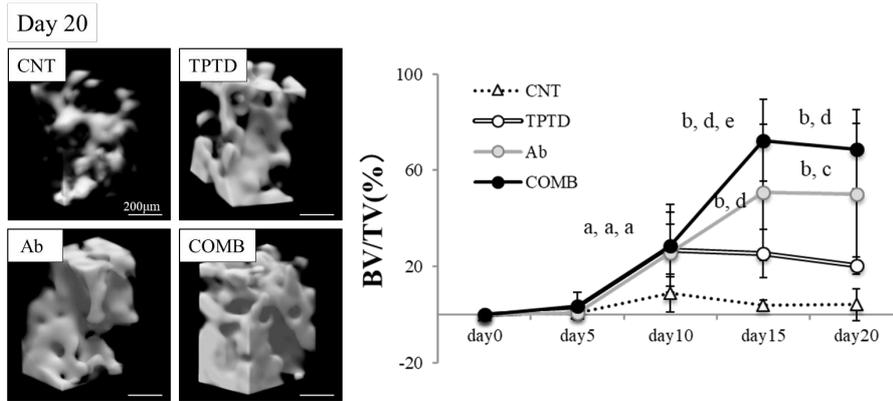
C57BL6N 雌マウス 13 週齢 55 匹中 44 匹に対して両側卵巣摘出術 (OVX) を施行し、11 匹に対しては Sham 手術を実施した。卵巣摘出術・Sham 手術後 1 ヶ月が経過した時点で、17 週齢となったマウスの左大腿骨遠位骨幹端部と右大腿骨骨幹部に骨欠損を作成した。Sham 手術群 (SHAM 群; 11 匹): 生理食塩水 0.1ml 週 5 回投与、OVX 手術群 (CNT 群;11 匹): 生理食塩水 0.1ml 週 5 回投与、OVX 手術+テリパラチド群(TPTD 群;11 匹): TPTD 40 μ g/kg/day 週 5 回投与、OVX 手術+抗 RANKL 抗体群(Ab 群;11 匹): OYC-1:5mg/kg 単回投与、OVX 手術+併用群 (COMB 群;11 匹): TPTD + OYC-1 の 5 群に分けて検討し、薬剤の投与は骨欠損作成後 20 日間継続した。若齢の健常マウスでの検討と同様に、マイクロ CT を用いて骨欠損部の継時的な骨再生の評価と脛骨近位部の経時的な骨量変化、再生骨部の組織学的評価・微小骨強度試験を実施した。

4. 研究成果

(1) 若齢の健全動物における併用治療の効果 (Kitaguchi K et al., Bone 2018; 106:1-10)

海綿骨骨再生

海綿骨の再生骨量(BV/TV)は、併用群で早期より骨再生が見られ、術後 15 日目に他 3 群と比較し有意に増加した(CNT 群 3.94%, TPTD 群 25.4%, Ab 群 50.8%, COMB 群 72.5%; $p < 0.05$)。骨形態計測の結果より、骨形成初期に TPTD と抗 RANKL 抗体の併用が相加的に効果を発揮した可能性が示唆された。



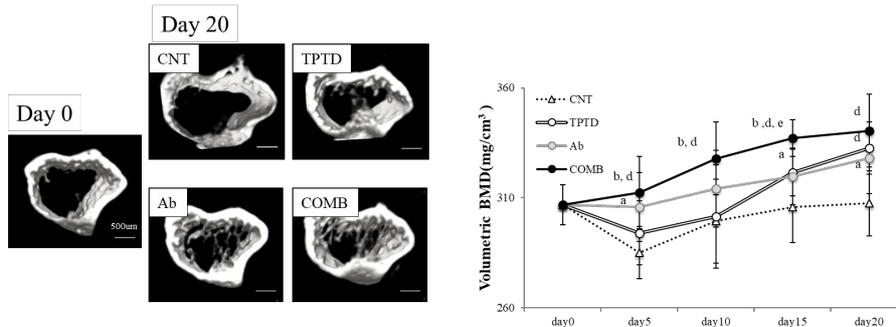
(a: $P < 0.05$ vs CNT, b: $P < 0.001$ vs CNT, c: $P < 0.05$ vs TPTD, d: $P < 0.001$ vs TPTD, e: $P < 0.05$ vs Ab)

皮質骨骨再生

皮質骨の再生骨量(BV/TV)は術後 15 日目で TPTD 群と COMB 群で Ab 群より有意に再生骨量が増加した(TPTD 群 51.0%, Ab 群 22.6%, COMB 群 42.8%; $p < 0.05$)。Ab 群、COMB 群で層板骨形成の遷延を認めたが、骨強度試験では微小骨強度の低下を認めなかった。皮質骨骨再生に対する併用による効果は見られなかった。

その他の骨組織への影響

骨欠損作成部以外の骨組織 (脛骨近位部) に関しては、COMB 群で他の 3 群に比し有意に骨量が増加した($p < 0.05$)。併用による海綿骨骨修復促進と同時に全身の骨組織の骨強度改善が見込めることが示唆された。

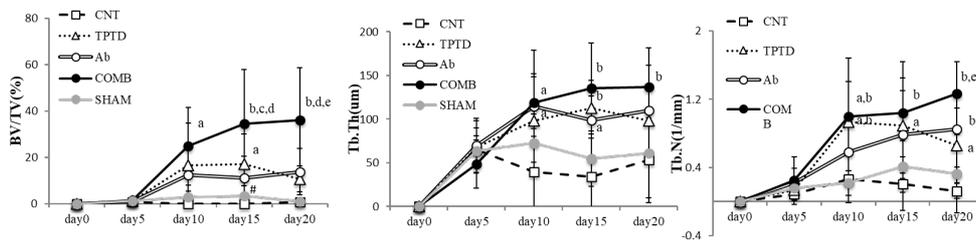


(a: $P < 0.05$ vs CNT, b: $P < 0.001$ vs CNT, c: $P < 0.05$ vs TPTD, d: $P < 0.001$ vs TPTD, e: $P < 0.05$ vs Ab)

(2) 閉経後骨粗鬆症モデル動物における併用治療の効果 (現在英文誌投稿中)

海綿骨骨再生

骨形成能の低下を示した閉経後骨粗鬆症モデルにおいても、若齢の健全動物と同様に海綿骨の再生骨量(BV/TV)が併用群で術後 15 日目・20 日目に他 3 群と比較し有意に増加した。骨形成能の低下した粗鬆骨においても、併用により優れた海綿骨の骨再生を示した。



(a: $P < 0.05$ vs CNT, b: $P < 0.001$ vs CNT, c: $P < 0.05$ vs TPTD, d: $P < 0.001$ vs TPTD, e: $P < 0.05$ vs Ab)

皮質骨骨再生

若齢の健常動物での結果と同様に、皮質骨骨再生に対する併用による効果は見られなかった。

その他の骨組織への影響

骨欠損作成部以外の骨組織（脛骨近位部）に関しては、COMB 群で CNT 群および TPTD 群に比し有意に骨量が増加した ($p < 0.05$)。若齢の健常動物での結果と同様に、併用により海綿骨骨修復促進と同時に全身の骨組織の骨強度改善が見込めることが示唆された

TPTD と抗 RANKL 抗体両剤の併用による相加効果は、海綿骨が豊富な部位である脊椎椎体骨折や骨幹端部骨折に対して短期間に骨折治癒を促進する治療法となる可能性が示された。脆弱性骨折の骨折治療と同時に二次骨折予防を行うという観点から理想的な骨粗鬆症性脆弱性骨折発生後の治療となりうることが示唆された。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

Kitaguchi K, Kashii M, Ebina K, et al. Effects of weekly teriparatide administration for vertebral stability and bony union in patients with acute osteoporotic vertebral fractures. Asian Spine J. 2019. 査読有. In Press. DOI: 10.31616/asj.2018.0311.

Kitaguchi K, Kashii M, Ebina K, et al. Effects of single or combination therapy of teriparatide and anti-RANKL monoclonal antibody on bone defect regeneration in mice. Bone. 2018. 査読有. 106:1-10. DOI:10.1016/j.bone.2017.09.021.

Kaito T, Morimoto T, Kanayama S, Otsuru S, Kashii M, Makino T, Kitaguchi K, Furuya M, Chijimatsu R, Ebina K, Yoshikawa H. Modeling and remodeling effects of intermittent administration of teriparatide (parathyroid hormone 1-34) on bone morphogenetic protein-induced bone in a rat spinal fusion model. Bone Rep. 2016. 査読有. 16;5:173-180. DOI: 10.1016/j.bonr.2016.07.003.

〔学会発表〕(計 11 件)

北口 和真, 柏井 将文, 蛭名 耕介, 海渡 貴司, 牧野 考洋, 岡田 倫太郎, 石本 卓也, 中野 貴由, 吉川 秀樹. テリパラチドと抗 RANKL 抗体併用による骨再生に対する効果(骨粗鬆症モデル). 第 20 回日本骨粗鬆症学会. 2018.10.26-28 長崎.

北口 和真, 柏井 将文, 蛭名 耕介, 海渡 貴司, 牧野 考洋, 野口 貴明, 岡田 倫太郎, 石本 卓也, 中野 貴由, 吉川 秀樹. テリパラチドと抗 RANKL 抗体デノスマブの併用投与による骨再生への効果(微細構造から強度評価まで). 第 32 回日本整形外科学会基礎学術集会. 2017.10.26-27 那覇.

北口 和真, 柏井 将文, 蛭名 耕介, 海渡 貴司, 牧野 考洋, 野口 貴明, 岡田 倫太郎, 石本 卓也, 中野 貴由, 吉川 秀樹. テリパラチドと抗 RANKL 抗体デノスマブの併用投与による骨再生への効果(メカニズムから強度評価まで). 第 3 回日本骨免疫学会. 2017.6.27-29 石垣島, 沖縄.

北口 和真, 柏井 将文, 蛭名 耕介, 海渡 貴司, 牧野 考洋, 野口 貴明, 岡田 倫太郎, 石本 卓也, 中野 貴由, 吉川 秀樹. 骨粗鬆症薬による皮質骨再生への影響(再生骨に対する定量的評価から微小強度評価まで). 第 37 回日本骨形態計測学会. 2017.6.22-24 大阪.

Kazuma Kitaguchi, Masafumi Kashii, Takashi Kaito, Tsuyoshi Sugiura, Kosuke Ebina, Takahiro Makino, Takaaki Noguchi, Masayuki Furuya, Hideki Yoshikawa. Combination Therapy Of Teriparatide And Denosumab Has Additional Effects On Cancellous Bone Regeneration. Orthopaedic Research Society (ORS) annual meeting. 2017.5.19-22 San Diego(USA).

北口 和真, 柏井 将文, 海渡 貴司, 蛭名 耕介, 牧野 孝洋, 野口 貴明, 金山 完哲, 吉川 秀樹. テリパラチドと抗 RANKL 抗体デノスマブ併用投与の骨組織修復への影響. 第 31 回日本整形外科学会基礎学術集会. 2016.10.13-14 福岡.

北口 和真, 柏井 将文, 海渡 貴司, 蛭名 耕介, 牧野 孝洋, 野口 貴明, 金山 完哲, 吉川 秀樹. テリパラチドと抗 RANKL 抗体デノスマブの併用投与は海綿骨の骨修復を促進する. 第 18 回日本骨粗鬆症学会 2016.10.6-10.8 仙台.

柏井 将文. 骨折治癒に対する骨形成促進薬テリパラチド骨吸収抑制薬デノスマブ併用療法の効果. 日本骨粗鬆症学会若手サマ - セミナ - 2016. 2016.8.6-7 千葉.

北口 和真, 柏井 将文, 海渡 貴司, 蛭名 耕介, 牧野 孝洋, 野口 貴明, 金山 完哲, 吉川 秀樹. テリパラチドと抗 RANKL 抗体デノスマブ併用投与の骨組織修復への効果. 第 34 回日本骨代謝学会学術集会 2016.7.20-23 大阪.

北口 和真, 柏井 将文, 海渡 貴司, 蛭名 耕介, 牧野 孝洋, 野口 貴明, 金山 完哲, 吉川 秀樹. テリパラチドと抗 RANKL 抗体デノスマブを併用投与すると海綿骨の再生が促進される. 第 2 回日本骨免疫学会 2016.7.6-8 沖縄.

Kazuma Kitaguchi, Masafumi Kashii, Takashi Kaito, Kosuke Ebina, Takahiro Makino, Takaaki Noguchi, Sadaaki Kanayama, Hideki Yoshikawa. The effects of combined teriparatide and denosumab on bone regeneration. European Calcified Tissue Society (ECTS) 2016. 5.14-17. Rome (Italy).

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

特記事項なし

6 . 研究組織

(1)研究分担者

なし

(2)研究協力者

研究協力者氏名：北口 和真

ローマ字氏名：(KITAGUCHI, kazuma)

市立豊中病院 整形外科・医員

研究協力者氏名：蛭名 耕介

ローマ字氏名：(EBINA, kousuke)

大阪大学大学院医学系研究科・器官制御外科学 (整形外科)・助教

研究協力者氏名：海渡 貴司

ローマ字氏名：(KAITO, takashi)

大阪大学大学院医学系研究科・器官制御外科学 (整形外科)・助教

研究協力者氏名：石本 卓也

ローマ字氏名：(ISHIMOTO, takuya)

大阪大学大学院工学研究科・マテリアル生産科学専攻・材料機能化プロセス工学・准教授

研究協力者氏名：中野 貴由

ローマ字氏名：(NAKANO, takayoshi)

大阪大学大学院工学研究科・マテリアル生産科学専攻・材料機能化プロセス工学・教授

研究協力者氏名：吉川 秀樹

ローマ字氏名：(YOSHIKAWA, hideki)

大阪大学理事・副学長

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。