

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 5 月 15 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K10854

研究課題名(和文) ドラッグリポジショニングによる骨折・骨欠損新規治療法の開発

研究課題名(英文) Drug repositioning for successful healing of bone fractures or defects

研究代表者

三島 健一 (MISHIMA, KENICHI)

名古屋大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：40646519

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：ランソプラゾールの骨形成促進能を動物実験にて実証する目的で研究を進めた。ランソプラゾールを担持させた人工骨を準備し、ウサギ皮質骨欠損モデルへの埋植実験を行った。人工骨内の新生骨の組織学的な定量評価を行い有効性を評価した。前半は非水溶性の原末を用いたが、高濃度では組織毒性が現れて人工骨周囲に肉芽組織が形成され、低濃度では有意な有効性を示すことができなかった。後半は水溶性製剤に変更し、まず細胞レベルで骨形成促進能を確認した。続いて前半と同じように動物実験を行ったところ、組織毒性は出現せず、細胞レベルで確認された有効濃度の水溶液に含浸させた人工骨において有意な有効性が確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

既存薬の適応外効果を見出し臨床応用につなげる創薬手法はドラッグリポジショニング(DR)と呼ばれるが、すでに薬物動態や副作用のデータが揃っているため、上市までの時間を大幅に短縮できる利点がある。ランソプラゾールはDRによって骨形成促進能が明らかとなっていたが、全身投与での臨床応用は用量の点で困難が予想され、人工骨との併用による局所投与を着想した。本研究では当初不溶性原末を使っており、組織毒性と有効性とのバランスに苦慮したが、水溶性製剤への切り替えによって克服し、有効性を示すことができた。骨粗鬆症性骨折の際に生じる骨欠損部に補填することで、骨癒合までの時間短縮が期待できる。

研究成果の概要(英文)：We previously reported that lansoprazole accelerated the physiological process of fracture healing in rats. At first, we sought to determine if insoluble lansoprazole could promote local bone formation when combined with beta-TCP bone substitutes in a rabbit cortical bone defect model. However, we failed to demonstrate their therapeutic efficacy because the materials were surrounded with dense granulomatous tissues. Next, we have developed soluble lansoprazole-impregnated artificial bones and evaluated their efficacy by applying to the model. In contrast to the previous experiments using insoluble lansoprazole, significant efficacy of soluble lansoprazole-impregnated bone graft substitutes on local bone accrual could be identified. These results indicate that brief exposure of resident and circulating osteoblastic lineage cells to lansoprazole can be sufficient to enhance local bone regeneration in vivo without apparent cytotoxicity.

研究分野：小児整形外科と骨代謝

キーワード：骨形成促進 ドラッグリポジショニング ランソプラゾール 人工骨 骨折治癒促進 骨欠損修復 Run x2 コンビネーションデバイス

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。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

骨形成を促進させる薬剤として実際に生体で使用されている低分子化合物はまだ存在しない。既存薬の適応外効果を見出し臨床応用につなげる創薬手法はドラッグリポジショニング(DR)と呼ばれるが、すでに薬物動態や副作用のプロファイルデータが揃っているため、上市までの開発期間を大幅に短縮できる利点がある。

我々は DR の先行研究によって、ランソプラゾールには骨芽細胞分化を促進させ、骨折の癒合期間を短縮させるオフラベル効果があることを見出した。しかし全身投与での臨床応用は、細胞実験の結果から想定すると用量設定の点で困難が予想されたため、局所投与での活用を模索した。そして人工骨に担持することで本来材料自身に存在しない骨形成能を付与することができるとの着想に至り、本研究を開始した。

2. 研究の目的

ランソプラゾール含有人工骨の生体内での有効性と副作用を明らかにすることを目的に研究を行った。

3. 研究の方法

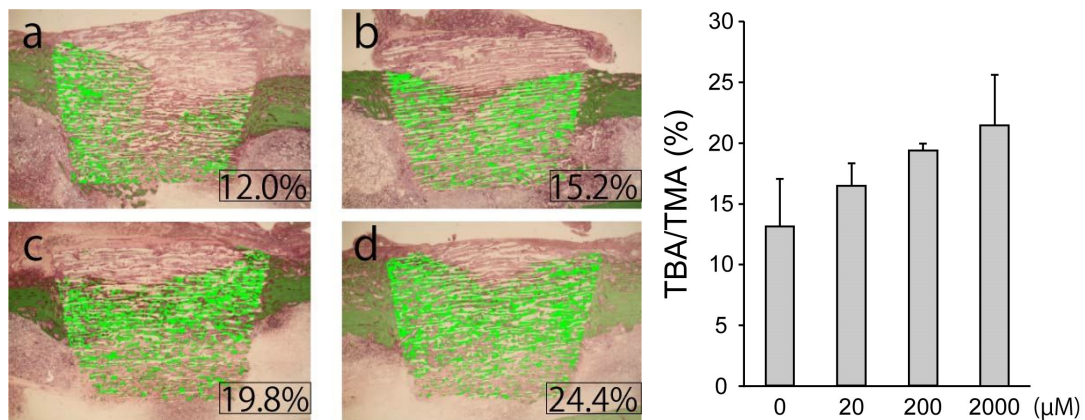
ランソプラゾール含有人工骨のウサギ脛骨近位皮質骨欠損モデルへの埋植実験を行った。移植用人工骨は共同研究企業から提供された β -TCP 製人工骨 (上底 3 mm×下底 5 mm×高さ 5 mm×奥行き 7 mm の台形柱) を使用した。人工骨への薬剤担持は、ランソプラゾール溶液に人工骨を浸漬することで行い、余剰な薬剤の洗浄工程を追加して薬剤の burst release による副作用を予防した。骨欠損モデルとして、日本白色ウサギの両側後肢の脛骨近位に矩形の皮質骨部分欠損をサージエアトームで作製し、人工骨を可及的に press-fit させて埋植した。埋植から 4 週、8 週の時点で人工骨を含む脛骨を回収し、レントゲン検査、 μ -CT 検査、非脱灰骨標本 (ピラヌエバゴールドナー染色) による人工骨内外の骨新生および走査型電子顕微鏡による人工骨の生体吸収の評価を行った。

有効性の評価は人工骨内外に形成される新生骨の組織学的定量によって行い、副作用の評価は人工骨近傍の組織学的変化や人工骨自体の生体吸収の状況に着目して行った。新生骨の定量評価はさらに材料全体を ROI とした全体評価と皮質部に移植されている領域を ROI とした骨部評価とに分けて行った。

4. 研究成果

研究期間の前半は不溶性の原末を使用し、薬剤担持は DMF 水溶液への浸漬で行った。まずラン

ソプラゾール溶液の濃度を 10, 25, 40 mM にして行ったところ、高濃度での先行研究で認めたと
うな組織毒性による肉芽組織の増生は起きず、また材料自体の生体吸収性は損なわれなかった。
しかし全体評価では逆に骨形成が抑制され、骨部評価では移植後 8 週では有効性が示されたが、
4 週では骨形成が抑制され、一貫性のある結果が得られなかった。これらの結果は使用した薬剤
が不溶性のため、薬剤の徐放が材料の吸収と同期して行われて遷延し、移植母床と人工骨の境界
において薬剤が細胞毒性を発揮する濃度で長期間留まったためと推測された。そこでランソブ
ラゾールには水溶性の点滴製剤が存在するため、研究期間の後半は水溶性製剤の使用に切り替
えて研究を進めた。まず水溶性製剤の骨形成促進効果を確認するため細胞実験を行ったところ、
不溶性製剤と同じ濃度域で骨芽細胞分化の促進作用があることが分かった。そこで人工骨を浸
漬するランソプラゾール水溶液の濃度を 20 μ M, 200 μ M, 2 mM にして埋植実験を行ったところ、
移植後 4 週において全体および骨部評価のいずれもランソプラゾール担持群では濃度依存性に
骨新生が増加しており、コントロールと比較して 200 μ M と 2mM では有意に上昇していた。



(左) 代表的な非脱灰骨標本のピラヌエバゴールドナー染色組織像。右下の数字は全体評価によ
る新生骨の面積割合。 a: Control, b: 20 μ M, c: 200 μ M, d: 2 mM

(右) 全体評価の結果。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 14件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 三島 健一、鬼頭 浩史、松下 雅樹、門野 泉、長田 侃、西田 佳弘、石黒 直樹	4. 巻 27
2. 論文標題 脚長差に伴う機能性側弯の特徴	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本小児整形外科学会雑誌	6. 最初と最後の頁 105-109
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mishima K, Kitoh H, Matsushita M, Nagata T, Kamiya Y, Ishiguro N.	4. 巻 -
2. 論文標題 Extensive Bone Lengthening for a Patient with Linear Morphea	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Case Rep Orthop.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1155/2018/4535804	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Mishima K, Kitoh H, Matsushita M, Sugiura H, Hasegawa S, Kitamura A, Nishida Y, Ishiguro N.	4. 巻 24
2. 論文標題 Early radiographic risk factors for rigid relapse in idiopathic clubfoot treated with the Ponseti method.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Foot Ankle Surg.	6. 最初と最後の頁 509-513
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.fas.2017.06.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 三島 健一、鬼頭 浩史、松下 雅樹、門野 泉、杉浦 洋、北村 暁子、西田 佳弘、石黒 直樹	4. 巻 26
2. 論文標題 小児同種造血幹細胞移植後の下肢痛症例の検討	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 日本小児整形外科学会雑誌	6. 最初と最後の頁 120-124
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hasegawa S, Kitoh H, Matsushita M, Mishima K, Kadono I, Sugiura H, Kitamura A, Ishiguro N	4. 巻 27
2. 論文標題 Chronic lateral epiphyseal separation of the proximal tibia causes late-onset tibia vara.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Pediatr Orthop B.	6. 最初と最後の頁 31-34
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/BPB.0000000000000430.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsushita M, Esaki R, Mishima K, Ishiguro N, Ohno K, Kitoh H.	4. 巻 7
2. 論文標題 Clinical dosage of meclozine promotes longitudinal bone growth, bone volume, and trabecular bone quality in transgenic mice with achondroplasia.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 7371
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-07044-8.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Osawa Y, Matsushita M, Hasegawa S, Esaki R, Fujio M, Ohkawara B, Ishiguro N, Ohno K, Kitoh H.	4. 巻 105
2. 論文標題 Activated FGFR3 promotes bone formation via accelerating endochondral ossification in mouse model of distraction osteogenesis.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Bone.	6. 最初と最後の頁 42-49
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bone.2017.05.016.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsushita M, Mishima K, Iwata K, Hattori T, Ishiguro N, Kitoh H.	4. 巻 96
2. 論文標題 Percutaneous pinning after prolonged skeletal traction with the hip in a flexed position for unstable slipped capital femoral epiphysis: A case series of 11 patients.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Medicine (Baltimore).	6. 最初と最後の頁 e6662
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MD.0000000000006662.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Matsushita M, Mishima K, Esaki R, Ishiguro N, Ohno K, Kitoh H.	4. 巻 19
2. 論文標題 Maternal administration of meclozine for the treatment of foramen magnum stenosis in transgenic mice with achondroplasia.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Neurosurg Pediatr.	6. 最初と最後の頁 91-95
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3171/2016.7.PEDS16199.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mishima K, Kitoh H, Iwata K, Matsushita M, Nishida Y, Hattori T, Ishiguro N.	4. 巻 95
2. 論文標題 Clinical Results and Complications of Lower Limb Lengthening for Fibular Hemimelia: A Report of Eight Cases.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Medicine (Baltimore)	6. 最初と最後の頁 e3787
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MD.0000000000003787	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 三島 健一、鬼頭 浩史、松下 雅樹、門野 泉、杉浦 洋、長谷川 幸、北村 暁子、西田 佳弘、石黒 直樹	4. 巻 25
2. 論文標題 Ponseti法におけるX線学的予後予測因子	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 日本小児整形外科学会雑誌	6. 最初と最後の頁 251-254
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mishima Kenichi, Kitoh Hiroshi, Matsushita Masaki, Nagata Tadashi, Kamiya Yasunari, Takahashi Yoshiyuki, Ishiguro Naoki	4. 巻 -
2. 論文標題 Lower limb pain following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in Japanese children	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Orthopaedic Science	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jos.2019.07.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kaneko Hiroshi, Kitoh Hiroshi, Mishima Kenichi, Matsushita Masaki, Hattori Tadashi, Noritake Koji, Ishiguro Naoki, Yoshihashi Yuji	4. 巻 -
2. 論文標題 Comparison of surgical and nonsurgical containment methods for patients with Legg-Calv?-Perthes disease of the onset ages between 6.0 and 8.0 years	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Pediatric Orthopaedics B	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/BPB.0000000000000710	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsushita M, Kitoh H, Mishima K, Yamashita S, Haga N, Fujiwara S, Ozono K, Kubota T, Kitaoka T, Ishiguro N.	4. 巻 -
2. 論文標題 Physical, Mental, and Social Problems of Adolescent and Adult Patients with Achondroplasia.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Calcif Tissue Int.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00223-019-00518-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

[学会発表] 計17件(うち招待講演 0件/うち国際学会 2件)

1. 発表者名 三島 健一、鬼頭 浩史、松下 雅樹、門野 泉、長田 侃、神谷 庸成、石黒 直樹
2. 発表標題 ペルテス病に対するソルター骨盤骨切り術の治療成績 骨頭前方の骨吸収パターンの違いによる予後予測 -
3. 学会等名 第92回日本整形外科学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三島 健一、鬼頭 浩史、松下 雅樹、石黒 直樹
2. 発表標題 特発性先天性内反足に対するPonseti法の長期成績(10年以上)と再発予測因子
3. 学会等名 第92回日本整形外科学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三島 健一、鬼頭 浩史、松下 雅樹、門野 泉、長田 侃、神谷 庸成、石黒 直樹
2. 発表標題 エイトプレートによる大転子骨端線抑制術の治療成績
3. 学会等名 第29回日本小児整形外科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 三島 健一、鬼頭 浩史、松下 雅樹、門野 泉、長田 侃、神谷 庸成、石黒 直樹
2. 発表標題 ベルテス病に対するソルター骨盤骨切り術の治療成績 骨頭前方の骨吸収パターンの違いによる予後予測 -
3. 学会等名 第29回日本小児整形外科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 三島 健一、鬼頭 浩史、松下 雅樹、門野 泉、長田 侃、西田 佳弘、石黒 直樹
2. 発表標題 エイトプレートによる大転子骨端線抑制術の短期治療成績
3. 学会等名 第33回東海小児整形外科懇話会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Mishima K, Sugiura H, Esaki R, Matsushita M, Kitoh H, Ishiguro N, Ohno K.
2. 発表標題 Drug repositioning for FGF23-mediated hypophosphatemia: Disulfiram lowers FGF23 production
3. 学会等名 2019 Orthopaedic Research Society (ORS) Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三島 健一、鬼頭 浩史、松下 雅樹、門野 泉、長田 侃、西田 佳弘、石黒 直樹
2. 発表標題 エイトプレートによる大転子骨端線抑制術の短期治療成績
3. 学会等名 第33回東海小児整形外科懇話会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 三島 健一、鬼頭 浩史、松下 雅樹、門野 泉、長田 侃、西田 佳弘、石黒 直樹
2. 発表標題 脚長差に伴う機能性側弯の特徴
3. 学会等名 第28回日本小児整形外科学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 岡部（塚越）由香、三島健一、加藤勝義、水野正明、石黒直樹、鬼頭浩史
2. 発表標題 プロトンポンプ阻害剤、ランソプラゾールの骨分化に与える影響の解析
3. 学会等名 第16回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 三島 健一、鬼頭 浩史、松下 雅樹、門野 泉、杉浦 洋、北村 暁子、西田 佳弘、石黒 直樹
2. 発表標題 先天性垂直距骨に対するDobbs法の短期治療成績
3. 学会等名 第32回東海小児整形外科懇話会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 三島 健一、 鬼頭 浩史、松下 雅樹、杉浦 洋、長谷川 幸、北村 暁子、西田 佳弘、石黒 直樹
2. 発表標題 原因不明の若年性変形性股関節症に対してソルター骨盤骨切り術と大腿骨内反骨切り術を実施した1例
3. 学会等名 第55回日本小児股関節研究会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Mishima K, Kitoh H, Matsushita M, Sugiura H, Ishiguro N.
2. 発表標題 Early radiographic parameters predictive of surgery-required relapse in idiopathic clubfoot treated using the Ponseti method.
3. 学会等名 37th SICOT Orthopaedic World Congress (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 三島 健一、 鬼頭 浩史、松下 雅樹、門野 泉、杉浦 洋、北村 暁子、西田 佳弘、石黒 直樹
2. 発表標題 小児同種造血幹細胞移植後の下肢痛症例の検討
3. 学会等名 第27回日本小児整形外科学会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 三島 健一、 鬼頭 浩史、松下 雅樹、門野 泉、杉浦 洋、北村 暁子、西田 佳弘、石黒 直樹
2. 発表標題 先天性垂直距骨に対するDobbs法の短期治療成績
3. 学会等名 第32回東海小児整形外科懇話会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 岡部(塚越)由香、三島健一、加藤勝義、水野正明、石黒直樹、鬼頭浩史
2. 発表標題 プロトンポンプ阻害剤、ランソプラゾールの骨分化に与える影響の解析
3. 学会等名 第16回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 三島 健一、神谷 庸成、長田 侃、松下 雅樹、石黒 直樹 澤村 健太、北村 暁子、岩田 浩志、金子 浩史、鬼頭 浩史、服部 義
2. 発表標題 Ponset i法実施例の学童期における治療成績と患者立脚型評価
3. 学会等名 第30回日本小児整形外科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三島 健一、神谷 庸成、長田 侃、松下 雅樹、石黒 直樹
2. 発表標題 ヘルテス病における血液検査所見と予後因子との関連
3. 学会等名 第30回日本小児整形外科学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	鬼頭 浩史 (KITOH HIROSHI) (40291174)	名古屋大学・医学部・招へい教員 (13901)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	松下 雅樹 (MATSUSHITA MASAKI) (60721115)	名古屋大学・医学系研究科・寄附講座助教 (13901)	
研究分担者	杉浦 洋 (SUGIURA HIROSHI) (40750477)	名古屋大学・医学部附属病院・医員 (13901)	削除：2017年6月9日
研究協力者	長田 侃 (NAGATA TADASHI)	名古屋大学・医学部附属病院・医員 (13901)	
研究協力者	神谷 庸成 (KAMIYA KASUNARI)	名古屋大学・医学部附属病院・医員 (13901)	