

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 30 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25861313

研究課題名(和文) BMP骨組織再生におけるテリパラチド併用効果の検討

研究課題名(英文) Effect of intermittent administration of teriparatide on bone morphogenic protein-induced bone formation in a rat model of spinal fusion

研究代表者

海渡 貴司 (Kaito, Takashi)

大阪大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：70623982

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：Bone morphogenetic protein(BMP)とPTH1-34を併用投与することはBMP大量投与による炎症反応や過剰新生骨などの副作用を必要なBMP量を低減することで抑制し、また誘導新生骨の骨質を著明に改善させた。BMP必要量の低減にはBMP過剰投与により発現が亢進するsclerostinのPTHによる作用抑制、骨質の改善にはPTH1-34による骨代謝回転の亢進、Wntシグナルの活性化による間葉系幹細胞の骨芽細胞分化促進(脂肪分化抑制)が貢献したと考えられる。また、BMPとPTH1-34の長期投与は過剰新生骨をモデリングし誘導新生骨の形態を改善する効果も確認された。

研究成果の概要(英文)：Although clinical bone morphogenetic protein (BMP) therapy is effective, but the required doses are very high. Teriparatide (PTH1-34) is a potent anabolic agent for the treatment of osteoporosis. In the studies, intermittent administration of PTH 1-34 combined with BMP transplantation was performed. PTH1-34 administration significantly increased fusion rates and quality of the newly formed bone. In addition modeling effect on the excessively induced new bone was observed by the administration of PTH1-34. Bone morphohistometry demonstrated predominant bone formation at endosteum and predominant bone resorption at periosteum. The activation of Wnt signaling and PTH receptor at osteocyte by PTH 1-34 might played a role. Our results suggest that the combined administration BMP and PTH1-34 may enable efficient bone regeneration in the clinical setting.

研究分野：整形外科学

キーワード：BMP Teriparatide Bone regeneration Spinal fusion Remodeling Modeling

1. 研究開始当初の背景

Bone morphogenetic protein(BMP)は強力な骨誘導能を有する蛋白であり、現在までにBMPと骨組織工学の手法を組み合わせた様々な骨組織再生が試みられている。しかしヒトでの使用には骨誘導に大量のBMPを必要とし、また担体にBMP徐放作用がないことによりburst release(短時間にBMPが拡散すること)が生じ、骨形成の空間的制御ができないことによる合併症(異所性骨化・過剰骨新生、炎症反応惹起による神経障害)が広く臨床応用される妨げとなっている。

2. 研究の目的

申請者は骨粗鬆症治療薬として臨床使用されている副甲状腺ホルモン製剤テリパラチド(PTH1-34)に着目し次の2つの側面からBMP骨組織工学と骨代謝改善剤を組み合わせた新規骨再生治療の開発を目指す。第一には骨形成を促進するテリパラチド間欠投与を併用することにより骨誘導・骨形成に必要なBMP量を低減し、上記合併症を低減することである。第二にはテリパラチドの骨代謝回転促進作用に着目し、BMPにより過剰に誘導された骨のリモデリングに対する効果を検証することである。

3. 研究の方法

(1)テリパラチド間欠投与によるBMP骨組織再生におけるBMP必要量低減の可能性の検討(術後6週評価)

ラット脊椎固定偽関節モデルを作成し、テリパラチド投与が骨癒合促進に与える影響を解析する。

8週齢SDラットにPTH1-34 180 µg/wを術前2週より投与し、手術後6週まで継続投与した。脊椎固定にはBMP0,2,50 µgをコラーゲンスポンジに含浸し移植し、PTH1-34投与の有無での骨癒合、誘導新生骨の骨質を比較した。評価指標としては、骨癒合率、micro-CTでの骨微細構造、血清骨代謝マーカー、組織評価を実施した。

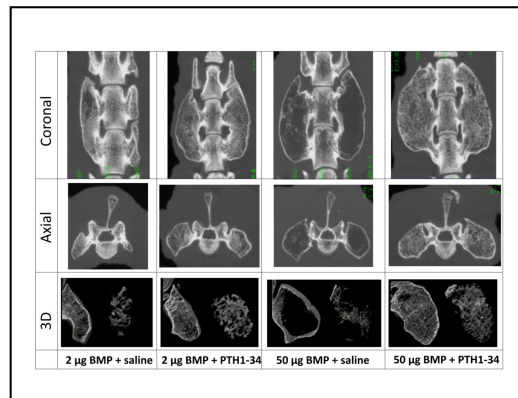
(2)テリパラチド間欠投与がBMP誘導新生骨のリモデリングへ与える影響の検討(術後12週評価)

ラット脊椎固定過剰骨新生モデルを作成し、テリパラチド投与が新生骨リモデリングに与える影響を解析する。上記の術後6週の観察を12週に延長して行い、骨のリモデリング・モデリングを骨形態計測にて検討した。上記の評価指標にカルセイン2重ラベリングを用いた骨形態計測を海綿骨および皮質骨(外膜および内膜)において実施した。

4. 研究成果

術後6週の検討では、PTH1-34の併用はBMP2 µg群において骨癒合率を有意に高め、骨癒合に必要なとされるBMP量を約1/5に低減可能であることを示した。またmicro CTでの骨微細構造パラメータをBMP低用量・高用量の両群でPTH1-34間欠投与は有意に改善させた。血清骨代謝マーカーは骨形成マーカーの上昇をPTH1-34投与群において認めた。Wnt antagonistであるsclerostinの発現抑制や、Wntシグナルの活性化による間葉系幹細胞の脂肪分化抑制が骨癒合率および新生骨の骨質改善に貢献したものと推察される。(Morimoto T, Kaito T, J Bone Joint Surg Am 2014)

PTH1-34長期投与の検討ではBMP高用量投与により過剰に誘導された骨は骨質の改善とともにモデリングされ過剰骨のサイズは縮小した。骨形態計測では、皮質骨においては外骨膜では骨吸収有意、内骨膜では骨形成有意であることが骨形態計測により確認された。BMPを用いた骨組織工学は高用量のBMP使用に伴う合併症・誘導新生骨の骨質・誘導骨の空間的制御が問題となっていたが、PTH1-34間欠投与を併用することで上記問題を解決できる可能性が示された点で広範囲骨欠損や難治骨折症例などにおける骨組織再生研究分野での本研究成果の意義は非常に大きいものと考えられる。(Kaito T, Morimoto T, et al. 投稿中)



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 3件)

1. Morimoto T, Kaito T, et al. Effect of intermittent administration of teriparatide (parathyroid hormone 1-34) on bone morphogenetic protein-induced bone formation in a rat model of spinal fusion. J Bone Joint Surg Am. 査読あり 2014; 96(13):e107 PMID:24990981

2. Morimoto T, Kaito T, et al. The bone morphogenetic protein-2/7 heterodimer is a stronger inducer of bone regeneration than the individual homodimers in a rat spinal fusion model. 査読あり Spine J. 2015;15(6):p1379-90 doi: 10.1016/j.spinee.2015.02.034

3. Sugiura T, Kashii M, Matsuo Y, Morimoto T, Honda H, Kaito T, et al. Intermittent administration of teriparatide enhances graft bone healing and accelerates spinal fusion in rats with glucocorticoid-induced osteoporosis. 査読あり Spine J. 2015;15(2):p298-306 doi: 10.1016/j.spinee.2015.02.034.

〔学会発表〕(計 13 件)

1. Morimoto T, Kaito T, et al. Effect of intermittent administration of teriparatide (PTH1-34) on BMP induced bone formation in a rat spinal fusion model. 20th International Meeting of Advanced Spine Techniques, Vancouver, Canada, 2013 年 7 月 10 日 ~ 7 月 13 日

2. Morimoto T, Kaito T, et al. Effect on bone remodeling by teriparatide (PTH1-34) in BMP-2 induced rat spinal fusion model. 60th Orthopaedic Research Society annual meeting, New Orleans, USA, 2013 2014 年 3 月 15 日 ~ 3 月 18 日

3. Morimoto T, Kaito T, et al. Long-term administration of intermittent teriparatide (PTH1-34) accelerates remodeling of BMP-induced new bone in a rat spinal fusion model. EUROSPINE, Lyon, France, 2014 年 10 月 1 日 ~ 10 月 3 日

4. Kanayama S, Kaito T, et al. Effect of intermittent administration of teriparatide (PTH1-34) on BMP induced bone regeneration in a rat critical-sized femoral defect model. ASBMR, Seattle, USA, 2015 年 10 月 9 日 ~ 10 月 12 日

5. 森本時光、海渡貴司、他. ラット BMP-2 併用脊椎固定モデルにおいて teriparatide (PTH1-34) 長期投与は新生骨のリモデリングを促進する 第 43 回日本脊椎脊髄病学会, 京都, 2014 年 4 月

17 日 ~ 4 月 19 日

6. 森本時光、海渡貴司、他. BMP2/7 heterodimer は BMP2 および BMP7 heterodimer より強力な骨誘導能を有する 第 43 回日本脊椎脊髄病学会, 京都, 2014 年 4 月 17 日 ~ 4 月 19 日

7. 海渡貴司 Effect of intermittent administration of teriparatide (parathyroid hormone 1-34) on quality and remodeling of bone morphogenetic protein-induced bone in a rat spinal fusion model. 第 8 回骨軟骨フロンティア, 東京, 2014 年 11 月 22 日

8. Kaito T. Biological enhancement of spinal fusion - current condition and future perspective-. 第 18 回脊椎と神経を語る会 東京 2015 年 3 月 14 日 ~ 3 月 15 日

9. 海渡貴司 脊椎固定における生物学的骨癒合促進 現況および未来への展望 代 13 回運動器関節修復フォーラム 大阪 2015 年 9 月 19 日

10. 海渡貴司 脊椎固定術の過去・現在・未来 北海道脊椎外科研究会 札幌, 2015 年 7 月 11 日

11. 森本時光、海渡貴司、他. ラット BMP-2 併用脊椎固定モデルにおいて teriparatide (PTH1-34) 間欠投与は骨癒合率および新生骨の骨質を改善させる 第 20 回 BMP 研究会、浜松、2013 年 7 月 5 日

12. 森本時光、海渡貴司、他. Teriparatide (PTH1-34) 簡潔投与は BMP-2 併用ラット脊椎後方固定モデルにおいて骨癒合率および新生骨の骨質を改善させる 第 28 回日本整形外科基礎学術集会 千葉、2013 年 10 月 17 日 ~ 10 月 18 日

13. 森本時光、海渡貴司、他. ラット BMP-2 併用脊椎固定モデルにおいて PTH1-34 長期投与は新生骨のリモデリングを促進する 第 13 回日本再生医療学会、京都、2013 年 3 月 4 日 ~ 3 月 6 日

〔図書〕(計 1 件)

1, 海渡貴司 骨の再生医療の現状と将来 脊椎脊髄ジャーナル 29 巻 6 号

〔その他〕
ホームページ等

5. 研究組織

(1) 研究代表者

海渡 貴司 (KAITO Takashi)
大阪大学・大学院医学系研究科 助教
研究者番号：70623982

(2) 研究協力者

森本 時光 (MORIMOTO Tokimitsu)
金山 完哲 (KANAYAMA Sadaaki)