

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 5 月 12 日現在

機関番号：12601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K24022

研究課題名(和文) マウス脊椎骨癒合モデルを用いた新規骨粗鬆症薬の検討

研究課題名(英文) Research on new osteoporosis drugs using mouse vertebral fusion model

研究代表者

坂本 龍司 (Sakamoto, Ryuji)

東京大学・医学部附属病院・特任臨床医

研究者番号：20845888

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：C57BL/6Jマウスを用いて椎間関節を癒合させる比較的低侵襲で簡便な脊椎骨癒合モデルを作成した。術後経時的に評価し、術後8週から12週にかけて骨癒合することをマイクロCTや組織学的評価で確認できた。また、骨粗鬆症モデルとして卵巣摘出手術(OVX)を行ったのと同じく経時的に評価を行い、OVX後8週で骨梁数や骨梁幅が減少することが確認できた。以上得られた時系列のデータをもとに、C57BL/6Jのマウスを用いてOVXを行い骨粗鬆症を誘導後、新規骨粗鬆症薬投与しマイクロCTや組織学的に評価を行い、新規骨粗鬆症薬が脊椎の骨癒合にどのような影響を与えるかどうか引き続き解析を進めている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脊椎固定術は変形や不安定性を伴う様々な病態に対して広く行われている術式であり、脊椎疾患を抱える患者のQOLを大きく改善させる。一方、術後に骨癒合せず、偽関節となって治療に難渋する例も珍しくないが、その一因として骨粗鬆症がある。近年では高齢化に伴い骨粗鬆症患者は増加しており、脊椎固定術における偽関節率の上昇も懸念される。以上のように、脊椎固定術を行うにあたり、偽関節率などの合併症を減少させQOL改善につなげるためにも骨粗鬆症治療はますます重要となってきている。本研究により、骨粗鬆症を合併する脊椎手術における骨癒合率の向上につなげることが可能であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We created a relatively minimally invasive and simple spinal bone fusion model for intervertebral joint fusion using C57BL/6J mice. Postoperative bone fusion was evaluated over time, and it was confirmed by micro-CT and histological evaluation that bone fusion occurred between 8 and 12 weeks after surgery. In addition, the number and width of the trabecula decreased at 8 weeks after OVX. Based on the time series data obtained above, we are continuing to analyze the effect of the new osteoporosis drug on bone healing in the spine by administering the new osteoporosis drug to C57BL/6J mice after inducing osteoporosis by OVX and evaluating the results by micro CT and histology.

研究分野：脊椎外科

キーワード：脊椎固定術 骨粗鬆症 骨癒合

1. 研究開始当初の背景

脊椎固定術は変形や不安定性を伴う様々な病態に対して広く行われている術式であり、脊椎疾患を抱える患者の QOL を大きく改善させる。一方、術後に骨癒合せず、偽関節となつて治療に難渋する例も珍しくないが、その一因として骨粗鬆症がある。近年では高齢化に伴い骨粗鬆症患者は増加しており(推定 1200 万～1300 万人)、骨粗鬆症患者における脊椎固定術後の偽関節率は約 30%にも上るといふ報告もあることから、脊椎固定術における偽関節率の上昇も懸念される。以上のように、脊椎固定術を行うにあたり、偽関節率などの合併症を減少させ QOL 改善につなげるためにも骨粗鬆症治療はますます重要となつてきている。

しかしながら最も普及しているビスフォスフォネート製剤などの骨吸収抑制薬は骨代謝におけるリモデリングを抑制するため骨折後や固定術後の癒合を遷延させるという報告もある。最近では PTH などの骨形成促進剤や抗 RANKL 抗体などの新規骨吸収抑制剤なども多く使用されるようになってきているが、これらの新規薬剤が脊椎固定術における骨癒合率に対して与える影響は未だ明らかではない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、既に確立したマウス脊椎骨癒合モデルを用いてマウスにおける脊椎固定術後の骨癒合が、どのような組織学的変化を伴い進展していくかを、マイクロ CT や組織学的評価、骨形態計測などから解析し明らかにすることである。

3. 研究の方法

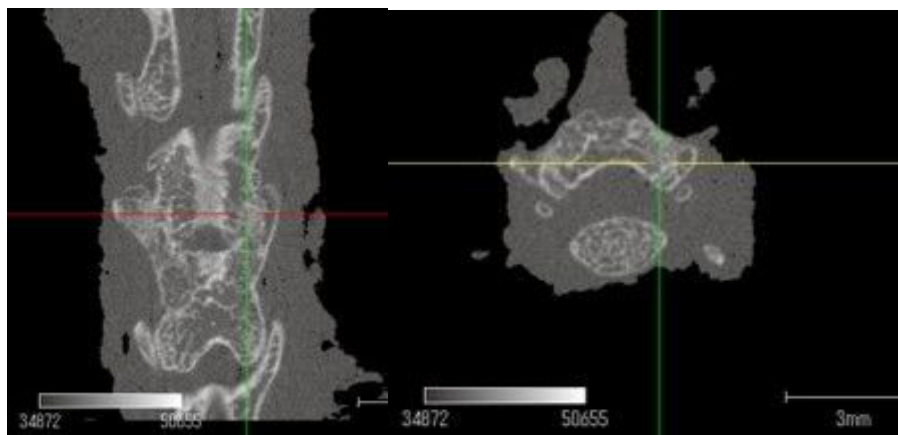
手術成績の向上や病態の解明のため、従来多くの動物で脊椎固定術モデルが作成されてきた。マウスは比較的安価で遺伝子改変技術の進んでいる動物の 1 つであるが、脊椎の骨癒合モデルに関しては涉猟しうる限り 2 つしか報告がなく、手技の難易度が高く普及していないのが実情である。また他の動物を用いた研究においても骨癒合を促進するため BMP2 を投与するモデルが多い。我々はマウスの下関節突起を切除するという比較的軽微な方法で脊椎固定術モデルを作成することに成功した。このモデルマウスでは BMP2 など骨形成促進剤を投与することなく骨癒合させることができ、他の薬剤に修飾されることなく骨癒合に関与する分子メカニズムについて評価することが可能である。さらに将来的にはマウス卵巣摘出 (OVX) モデルや新規骨粗鬆症薬を用いることによってこれらの骨癒合に及ぼす影響を評価することが可能と考える。

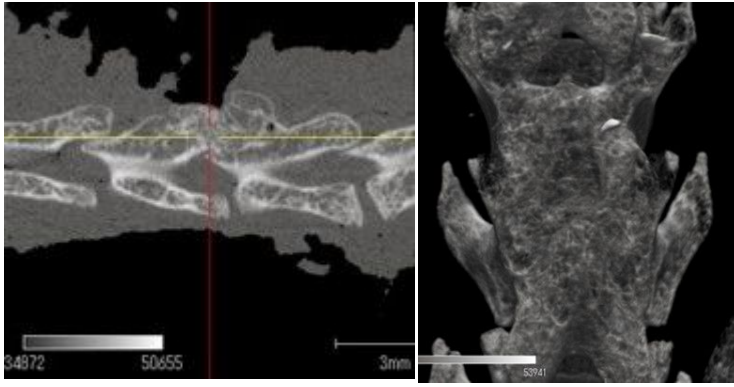
このモデルを使用し、脊椎骨癒合の過程をマイクロ CT による画像評価や組織切片による評価を段階的に実施した。

4. 研究成果

(1)作成したマウス脊椎骨癒合モデルの経時的評価

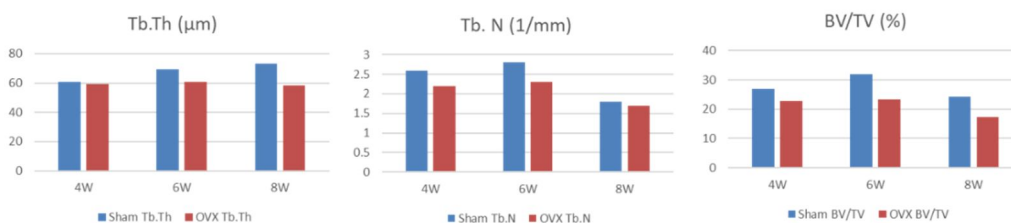
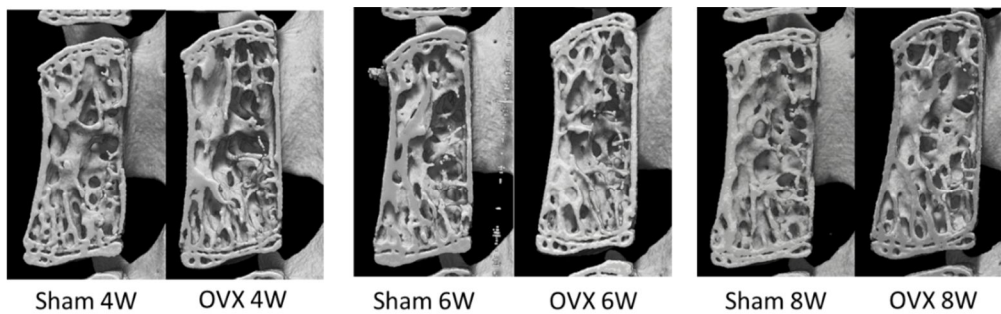
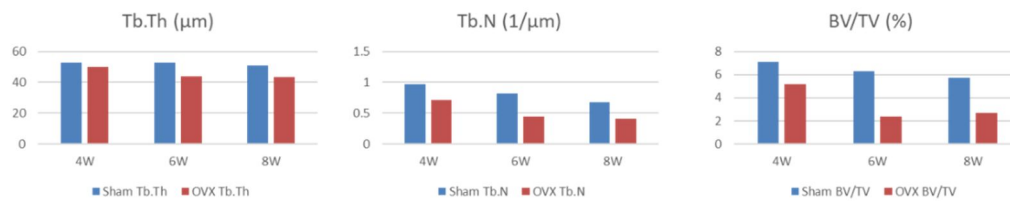
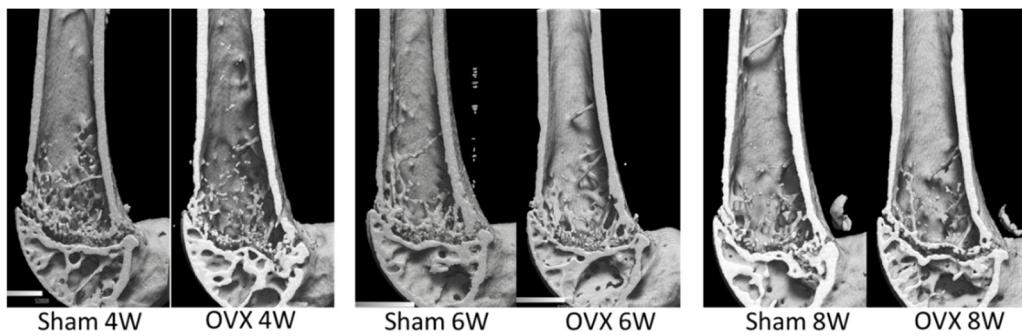
8 週間後の C57BL/6J のマウスを用いて、下関節突起を切除することで椎間関節を癒合させる比較的軽微な脊椎骨癒合モデルを作成した。骨癒合の経時的変化を確認するため、術後経時的にマイクロ CT を用いて評価した。その結果、術後 8 週から 12 週にかけて骨癒合する傾向にあることをマイクロ CT や組織学的評価で確認できた。





(2)OVX モデルの経時的評価

骨粗鬆症モデルとして卵巣摘出手術(OVX)を行ったのち、マイクロ CT や組織学的に経時的に評価を行い、OVX 後 8 週で骨梁数や骨梁幅が減少することが確認できた。また組織切片の TRAP 染色も行い、OVX 誘導後経時的に破骨細胞が増加することを確認できた。



以上得られた時系列のデータをもとに、C57BL/6J のマウスを用いて OVX を行い骨粗鬆症を誘導後、新規骨粗鬆症薬投与しマイクロ CT や組織学的に評価を行い、新規骨粗鬆症薬が脊椎の骨癒合にどのような影響を与えるかどうか引き続き解析を進めている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Doi Toru, Sakamoto Ryuji, Horii Chiaki, Okamoto Naoki, Nakajima Koji, Hirai Shima, Oguchi Fumihiko, Kato So, Taniguchi Yuki, Matsubayashi Yoshitaka, Hayashi Naoto, Tanaka Sakae, Oshima Yasushi	4. 巻 8
2. 論文標題 Risk factors for progression of ossification of the posterior longitudinal ligament in asymptomatic subjects	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Neurosurgery: Spine	6. 最初と最後の頁 1~7
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3171/2020.3.SPINE2082	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 Nagata Kosei, Oshima Yasushi, Nakamoto Hideki, Sakamoto Ryuji, Ohtomo Nozomu, Izuka Masaaki, Nakajima Koji, Yoshimoto Takahiko, Fujii Tomoko, Matsudaira Ko, Tanaka Sakae, Oka Hiroyuki	4. 巻 Online ahead of print
2. 論文標題 Validity of the Japanese Core Outcome Measures Index (COMI)-Back for thoracic and lumbar spine surgery: a prospective cohort study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 European Spine Journal	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/s00586-019-06249-x	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2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 坂本龍司, 大島寧, 他
2. 発表標題 脊椎内視鏡手術の術後巨大血腫の1例
3. 学会等名 第26回JPSTSS
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 坂本龍司, 大島寧, 他
2. 発表標題 後頭骨環椎関節奇形を伴った21トリソミーの上位頸髄障害の一例
3. 学会等名 第696回関東整形災害外科学会月例会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

東京大学医学部附属病院 整形外科・脊椎外科
<http://www.u-tokyo-ortho.jp/>

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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------