

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K09556

研究課題名(和文) ラット脊椎固定モデルにおけるBMPと抗スクレロスチン抗体の相互効果の検討

研究課題名(英文) Analysis of the interaction between BMPs and anti-sclerostin antibodies in a rat spinal immobilization model

研究代表者

宮崎 正志 (Miyazaki, Masashi)

大分大学・医学部・講師

研究者番号：30527742

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)：骨粗鬆症薬である抗スクレロスチン抗体とBMPの相互効果と安全性を検討するためにラット脊椎固定モデル、ラット大腿骨骨折モデルを確立した。マテリアルを移植し6週間後にラットをsacrificeし移植した脊椎や大腿骨を摘出した。徒手骨癒合試験後に、X線撮影し、H.E染色による病理組織標本を作製した。また、マイクロCT検査を施行した。抗スクレロスチン抗体とBMPの相互効果は得られなかったが、骨粗鬆症薬である副甲状腺ホルモンの間欠投与でBMPによる骨癒合能が上昇することが判明した。この動物実験モデルでは副甲状腺ホルモンの間欠投与の投与回数によってより投与回数が多いほうが骨癒合に有利であることが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

骨粗鬆症薬であるテリパラチドとBMPの相互効果と安全性を、ラット脊椎固定モデル、ラット大腿骨骨折モデルを用いて検討した。また、テリパラチドの効果が最も発揮できる最適な投与間隔も検討した。その結果、骨粗鬆症薬であるテリパラチドと骨形成を持つBMPを併用することにより、より効果的な骨癒合が期待できる。この効果が確立できれば、脊椎固定術以外にも、骨折遷延治療や骨欠損に対する骨再生に対しても応用可能と思われる。臨床応用された場合、骨粗鬆症を背景に持つ四肢骨折や脊椎固定術の難治性偽関節の医療費の大幅削減が可能となり日本の超高齢化社会において増大しつつある社会医療保障費の削減につながる。

研究成果の概要(英文)：A rat spine fusion model and a rat femur fracture model were established to investigate the interaction effect and safety of BMP with an anti-sclerostin antibody as an osteoporosis drug. Six weeks after the implantation of the material, the rats were sacrificed and the implanted spine and femurs were removed. After the manual bone fusion palpation test, radiographs were taken and histopathology specimens were prepared by H.E. staining. Micro-CT examination was also performed. Although no reciprocal effect between anti-sclerostin antibodies and BMP was obtained, intermittent administration of parathyroid hormone as an osteoporosis drug was found to increase bone healing ability by BMP. In this animal experimental model, the number of intermittent doses of parathyroid hormone was found to better bone fusion, depending on the number of doses administered.

研究分野：整形外科学

キーワード：脊椎固定 骨粗鬆症 BMP

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

脊椎脊髄外科領域において脊椎固定術は最も頻りに施行されている手技である。しかしながら、様々な治療法の進歩にかかわらず、いまだ、その骨癒合率は満足できるものではなく、偽関節率は5-43%と報告されている。Bone morphogenetic protein (BMP)は強力な骨形成能と軟骨形成能、血管新生能を有する蛋白であり、米国においては脊椎固定術に対して使用が認められている。しかしながら、BMPはその効果が期待される分、非常に高価であり、また、臨床報告によると、十分な骨癒合を得るためには多量のBMPが必要とされるため、医療費用が問題となる。様々なBMPを用いたより効果的で安価な脊椎固定術の方法が模索されている。新規の骨粗鬆症薬である抗スクレロスチン抗体やテリパラチドは骨折の骨癒合に関して、動物実験で骨強度と骨癒合の促進が示されている。BMPとの併用でさらなる結果が期待できる。

### 2. 研究の目的

ラットモデルを用いてBMPと新規骨粗鬆症薬の相互効果を検討することを目的とした。本研究の成果により、脊椎脊髄外科領域の医療費用の軽減と脊椎固定術における骨癒合率向上へ繋がると考えられる。

### 3. 研究の方法

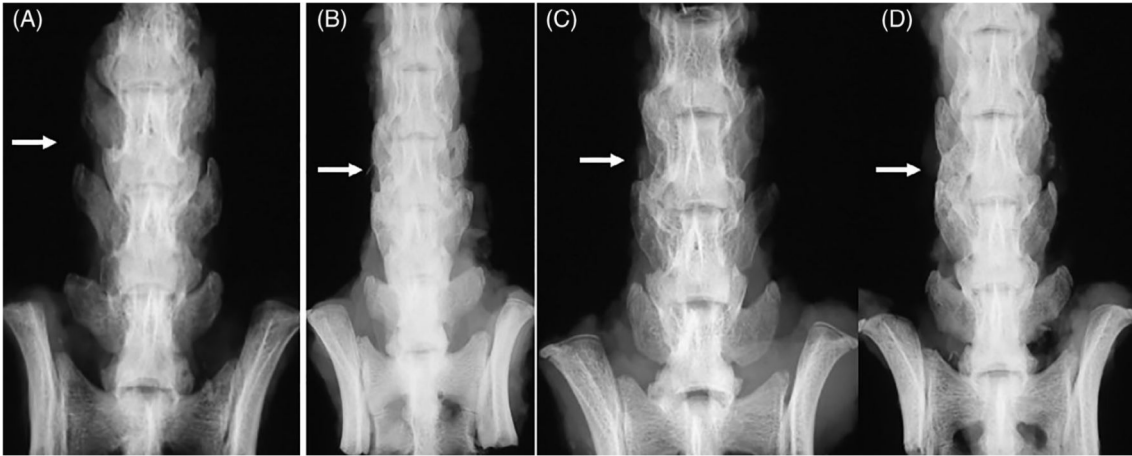
ラット脊椎固定モデルにおいて、新規骨粗鬆症薬(抗スクレロスチン抗体やテリパラチド)とBMPを投与した際の相互効果を実験した。尚、予備実験でBMPとテリパラチドの効果が抗スクレロスチン抗体よりも認められたため、実験計画を修正しBMPとテリパラチドの効果を詳細に検討した。

全身麻酔下、ラット脊椎固定モデルを作成する。ラットの背部を約4cm切開し傍脊柱筋を筋膜から切開しL4、L5の脊椎横突起を展開する。横突起の皮質骨をcutting barにてdecorticationした後、横突起間にBMP-2を担体とともに置く。傍脊柱筋および皮膚を縫合する。実験は4群にわけ、Group I、生理食塩水の担体のみ、骨粗鬆症薬投与なし；Group IIはBMP-2(3 $\mu$ g)を移植、骨粗鬆症薬投与なし；Group III、BMP-2(3 $\mu$ g)を移植、テリパラチドを週3回60 $\mu$ g/kg/回180 $\mu$ g/kg/week皮下注射；Group IV、BMP-2(3 $\mu$ g)を移植、PTHを週6回30 $\mu$ g/kg/回180 $\mu$ g/kg/week皮下注射として、ラット脊椎固定の実験を行う。各群ともに10から14匹、計52匹の実験を行う。手術8週間後に徒手骨癒合試験、X線撮影、H.E染色による病理組織標本作製する。レントゲン像から骨癒合の判定の有無と、病理組織標本から組織学的骨癒合評価、架橋形成、骨髄の大きさ、細胞浸潤の程度など検討した。さらにmicroCTを用いて新生骨の性状を詳細に検討した。

### 4. 研究成果

ラット脊椎固定モデルにおいて徒手骨癒合試験の結果は術後8週間後においてGroup Iは0%；Group IIは7.1%；Group IIIは28.6%；Group IVは35.7%とGroup III、IVが著明にGroup Iと比較して高かった。マイクロCTによる解析ではTV、BV/TVがGroup IVが著明に他のGroupと比較して有意に高かった。組織学的評価においてはGroup Iでは横突起間部に線維組織の形成が目立ち、骨形成は認めなかった。Group IIでは横突起間部には軟骨仮骨が大部分を占めており、未熟な骨組織を認める。Group IIIでは成熟した骨組織を認めるが、Group IVの方がより多くの成熟した骨組織および骨梁形成をみとめた。

(A) Group I , (B) Group II , (C) Group III , (D) Group IV

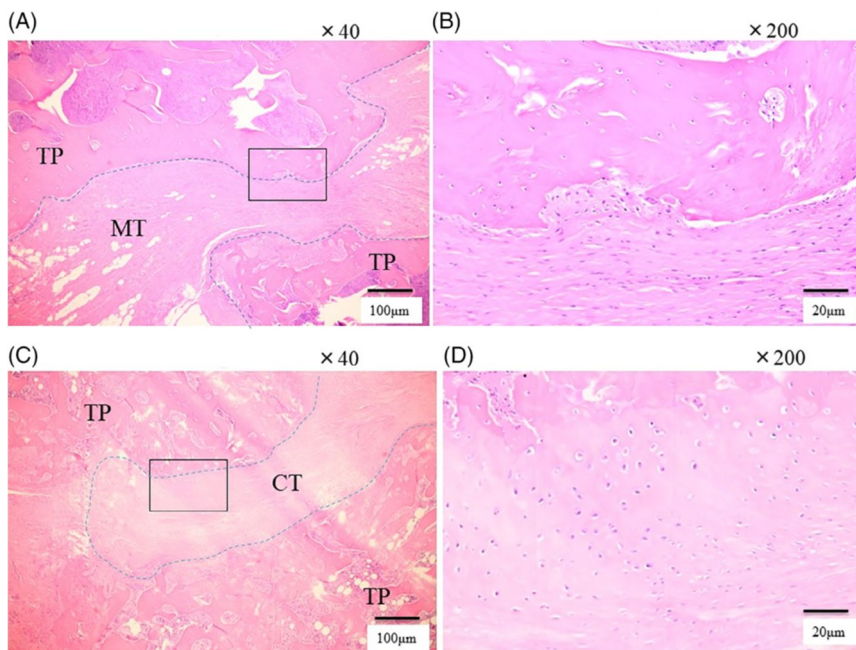


術後 8 週のマイクロ CT 3D 画像



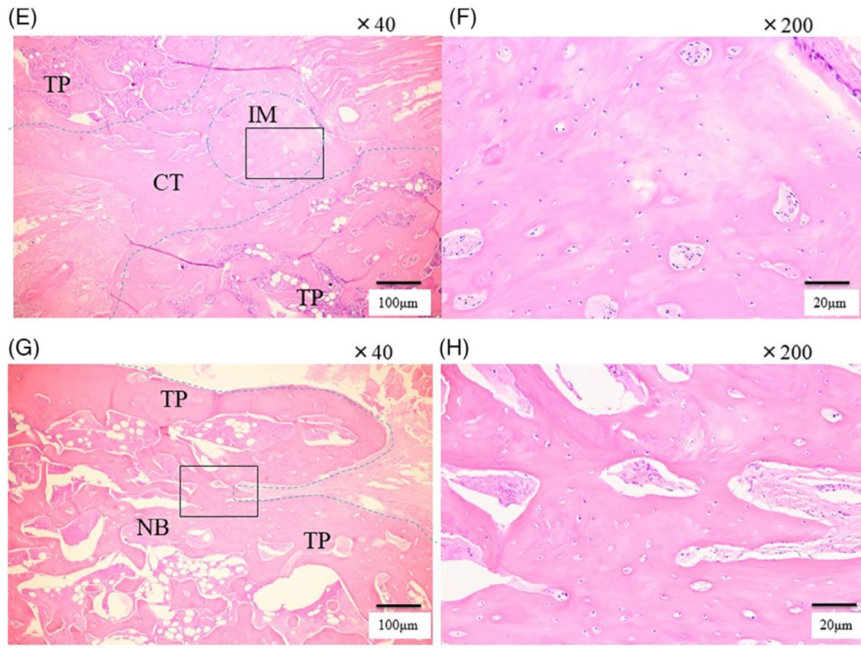
(A) Group I , (B) Group II , (C) Group III , (D) Group IV

病理組織像



(A) Group I (magnification  $\times 40$ ), (B) Group I (magnification  $\times 200$ )

(C) Group II (magnification  $\times 40$ ), (D) Group II (magnification  $\times 200$ )



(E) Group III (magnification  $\times 40$ ), Group III (magnification  $\times 200$ )

(G) Group IV (magnification  $\times 40$ ), Group IV (magnification  $\times 200$ )

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 2件）

1. 著者名 Abe Tetsutaro, Miyazaki Masashi, Ishihara Toshinobu, Kanezaki Shozo, Tsubouchi Yuhta, Tsumura Hiroshi	4. 巻 4
2. 論文標題 Optimal intermittent administration interval of parathyroid hormone 1-34 for bone morphogenetic protein induced bone formation in a rat spinal fusion model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 JOR SPINE	6. 最初と最後の頁 e1168
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/jsp2.1168	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 Kanezaki Shozo, Miyazaki Masashi, Ishihara Toshinobu, Notani Naoki, Abe Tetsutaro, Tsubouchi Yuhta, Kataoka Masashi, Tsumura Hiroshi	4. 巻 14
2. 論文標題 Enhancement of the effects of intermittent parathyroid hormone (1-34) by bone morphogenetic protein in a rat femoral open fracture model	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Orthopaedic Surgery and Research	6. 最初と最後の頁 403
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s13018-019-1470-9	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 -

〔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 阿部 徹太郎, 宮崎 正志, 石原 俊信, 津村 弘
2. 発表標題 BMPを用いたラット脊椎固定モデルにおける適切なPTH1-34投与間隔の検討
3. 学会等名 日本脊椎脊髄病学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 金崎 彰三, 宮崎 正志, 石原 俊信, 阿部 徹太郎, 野谷 尚樹, 坪内 優太, 津村 弘
2. 発表標題 ラット大腿骨開放骨折モデルにおけるBMP-2と副甲状腺ホルモンの併用効果
3. 学会等名 日本整形外科基礎学会
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
--	---------------------------	-----------------------	----

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