

学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・論	第731号	氏名	片岡高志
審査委員会委員	主査氏名	田仲和宏	
	副査氏名	河野憲司	
	副査氏名	寺村 健	
論文題目 Preoperative abaloparatide plus zoledronate treatment accelerates femoral bone healing in rats following osteotomy (術前のアバロパラチドおよびゾレドロネートの併用療法は、ラット大腿骨骨切り術における骨癒合を促進させる) 論文掲載雑誌名 Journal of Orthopaedic Surgery 論文要旨 【目的】骨形成促進薬 abaloparatide (Abalo) はヒト PTH 関連蛋白質 (hPTHrP) の一部を改変した骨粗鬆症治療薬である。今回、術前 Abalo を投与し、大腿骨骨切りモデル作成後に Zoledronate (ZA) を投与する方法における骨癒合促進効果を検討した。 【対象および方法】Sprague-Dawley rat 9 週齢、雄 56 匹を 4 群に分けた。[Control 群 (C 群、n=14)、Abalo 群 (術前 Abalo 6 週間投与、30 µg/kg/day、皮下注、5 日/週、n=14)、ZA 群 (術直後に ZA 単回投与、0.1mg/kg、皮下注、n=14)、Abalo+ZA 群 (n=14)]。実験開始後 (Abalo 投与 6 週間後) に右大腿骨骨切りモデルを作成した。術前 Abalo 投与による骨代謝への影響を確認するため、術前 6、4、2 週時、術当日にラット尾静脈より採血した。さらに術後 2、4 週の屠殺時に心臓からの血液採取と両大腿骨を摘出し、右大腿骨の軟 X 線撮影、骨折部の非脱灰標本による病理組織学的検査 (Toluidin blue 染色)、両大腿骨の micro-CT 撮影を実施した。血清から ELISA 法にて骨代謝マーカー (I 型プロコラーゲン-N-プロペプチド: P1NP、I 型コラーゲン架橋 C-テロペプチド: CTX-1) を測定した。 【結果】術後 2、4 週の骨折側軟 X 線像では Abalo 群、Abalo+ZA 群において C 群、ZA 群と比較し、仮骨の形成がより多く確認された。対照的に C 群や ZA 群では仮骨も少なく、骨の連続性も確認できなかった。骨折治癒の程度と仮骨形成で評価する RUST 法では骨切り術後 2、4 週ともに Abalo 群および Abalo+ZA 群で C 群と有意な差を認めた。Toluidin blue 染色による病理組織像でも術後 2 週時には C 群および ZA 群では仮骨形成や骨の石灰化を確認することはできなかったが、Abalo 群、Abalo+ZA 群では確認することができた。骨折側の micro-CT による骨形態計測において、Abalo+ZA 群は ZA 群に比べ骨量増加を認め、また非骨折側の micro-CT では骨量、骨密度、骨体積比、骨梁幅、骨梁間距離において他群と比較し、Abalo+ZA の併用効果が確認された。 【考察】術前の Abalo 投与と術後の ZA の併用では、C 群や ZA 群と比較し、骨微細構造の改善および骨癒合促進効果を認めることができた。Abalo は骨芽細胞前駆細胞の増殖と分化を促進し、軟骨細胞の成熟、骨芽細胞の産生、さらには破骨細胞前駆細胞の分化を促進させ、骨吸収を促進させることで、骨折の治癒を早める可能性がある。また ZA は破骨細胞のアポトーシスを誘導することで骨吸収を抑制し、ヒトおよび動物で骨量、骨密度、および機械的強度を高める。一方で、ZA は破骨細胞の不活性化を起こし、骨代謝回転が低下するため骨癒合に不利という意見もあるが、本研究における Abalo+ZA 群では、骨折治癒促進が確認できた。これらの要因として、先行研究に報告されている teriparatide と同様に Abalo が ZA の代謝回転を増加させることで早期からの骨折治癒を促進させると考えられた。 【結語】骨切り術前の Abalo と ZA の併用療法は、骨折治癒を促進させ、骨癒合遅延や偽関節などの難治性症例や、変形性関節症に対する骨切り術後の骨癒合促進に有効である可能性がある。 本研究は、骨形成薬 Abalo と骨吸収抑制薬 ZA を併用することにより、優れた骨癒合促進効果が期待できる新しい治療法の開発に繋がるものであると考える。 このため、審査員の合議により本論文は学位論文に値するものと判定した。			

最終試験

の結果の要旨

~~学力の確認~~

審査区分 ●・論	第731号	氏名	片岡高志
審査委員会委員	主査氏名	田仲和宏	
	副査氏名	河野孝司	
	副査氏名	寺林 健	
学位申請者は本論文の公开发表を行い、各審査委員から研究の目的、方法、結果、考察について以下の質問を受けた。 - 骨切り術後遷延癒合や偽関節発生の臨床的背景および要因 - 骨折と骨切り術後の骨癒合の過程の異同 - テリパラチドとアバロパラチドの薬理作用の比較 - ラットに対する骨切り術の実施環境と方法 - RUSTスコアの算出方法の妥当性と結果の解釈 - 骨代謝マーカーの測定方法の妥当性と結果の解釈 - トルイジンブルー染色の方法の妥当性と結果の解釈 - Abalo投与時の皮質骨骨密度への影響 - Abalo+ZA併用療法の臨床応用の可能性 - Abalo+ZAの併用方法の改善 - Micro-CTによるtrabecular thickness, trabecular separationの計測方法 「骨癒合」の定義として、骨切り断端面の連続性回復と骨皮質周辺の仮骨形成による連続性回復のいずれを指すか - Figure 3における(h)Abalo+ZA群、(g)ZA群の骨切り断端面の骨癒合の有無 - 仮骨形成のみによる骨切り部の治癒での術後早期荷重の妥当性 - BPは骨芽細胞には直接作用しないにも関わらず、ZA投与で骨形成が促進するメカニズム - Abalo単独に対し有意なAbalo+ZAの併用効果が認められないことの考察 - 論文題目の科学的正確性 - 骨切り術4週後においてAbalo+ZA併用で骨形成マーカーの血清中存在量が減少している理由 - Abaloによる炎症担当細胞に対する効果の検討 - 本研究で使用したAbalo及びZAの骨切り術に対する効果の先行薬と比較した優位性 これらの質疑に対して、申請者は概ね適切に回答した。よって審査委員の合議の結果、申請者は学位取得有資格者と認定した。			

(注) 不要の文字は2本線で抹消すること。

学 位 論 文 要 旨

氏名 片岡 高志

論 文 題 目

Preoperative abaloparatide plus zoledronate treatment accelerates femoral bone healing in rats following osteotomy

(術前のアバロパラチドおよびゾレドロナートの併用療法は、ラット大腿骨骨切り術における骨癒合を促進させる)

要 旨

【目的】骨形成促進薬 abaloparatide (Abalo) はヒト PTH 関連蛋白質 (hPTHrP) の一部を改変した骨粗鬆症治療薬である。今回、術前 Abalo を投与し、大腿骨骨切りモデル作成後に Zoledronate (ZA) を投与する方法における骨癒合促進効果を検討した。

【対象および方法】Sprague - Dawley rat 9 週齢、雄 56 匹を 4 群に分けた。[Control 群 (C 群、n=14)、Abalo 群 (術前 Abalo 6 週間投与、30 µg/kg/day、皮下注、5 日/週、n=14)、ZA 群 (術直後に ZA 単回投与、0.1mg/kg、皮下注、n=14)、Abalo+ZA 群 (n=14)]。実験開始後 (Abalo 投与 6 週間後) に右大腿骨骨切りモデルを作成した。術前 Abalo 投与による骨代謝への影響を確認するため、術前 6、4、2 週時、術当日にラット尾静脈より採血した。さらに術後 2、4 週の屠殺時に心臓からの血液採取と両大腿骨を摘出し、右大腿骨の軟 X 線撮影、骨折部の非脱灰標本による病理組織学的検査 (Toluidin blue 染色)、両大腿骨の micro-CT 撮影を実施した。血清から ELISA 法にて骨代謝マーカー (I 型プロコラーゲン-N-プロペプチド : P1NP、I 型コラーゲン架橋 C-テロペプチド : CTX-1) を測定した。

【結果】術後 2、4 週の骨折側軟 X 線像では Abalo 群、Abalo+ZA 群において C 群、ZA 群と比較し、仮骨の形成がより多く確認された。対照的に C 群や ZA 群では仮骨も少なく、骨の連続性も確認できなかった。骨折治癒の程度と仮骨形成で評価する RUST 法では骨切り術後 2、4 週ともに Abalo 群および

Abalo+ZA 群で C 群と有意な差を認めた。Toluidin blue 染色による病理組織像でも術後 2 週時には C 群および ZA 群では仮骨形成や骨の石灰化を確認することはできなかったが、Abalo 群、Abalo+ZA 群では確認することができた。骨折側の micro-CT による骨形態計測において、Ablo+ZA 群は ZA 群に比べ骨量増加を認め、また非骨折側の micro-CT では骨量、骨密度、骨体積比、骨梁幅、骨梁間距離において他群と比較し、Abalo+ZA の併用効果が確認された。

【考察】術前の Abalo 投与と術後の ZA の併用では、C 群や ZA 群と比較し、骨微細構造の改善および骨癒合促進効果を認めることができた。Abalo は骨芽細胞前駆細胞の増殖と分化を促進し、軟骨細胞の成熟、骨芽細胞の産生、さらには破骨細胞前駆細胞の分化を促進させ、骨吸収を促進させることで、骨折の治癒を早める可能性がある。また ZA は破骨細胞のアポトーシスを誘導することで骨吸収を抑制し、ヒトおよび動物で骨量、骨密度、および機械的強度を高める。一方で、ZA は破骨細胞の不活性化を起し、骨代謝回転が低下するため骨癒合に不利という意見もあるが、本研究における Abalo+ZA 群では、骨折治癒促進が確認できた。これらの要因として、先行研究に報告されている teriparatide と同様に Abalo が ZA の代謝回転を増加させることで早期からの骨折治癒を促進させると考えられた。

【結語】骨切り術前の Abalo と ZA の併用療法は、骨折治癒を促進させ、骨癒合遷延や偽関節などの難治性症例や、変形性関節症に対する骨切り術後の骨癒合促進に有効である可能性がある。