



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Intermittent administration of teriparatide with high and low frequencies showed different histological profile of bone formation in mice [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	山本, 知真也
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第12160号
Issue Date	2016-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/62186
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Tomomaya_Yamamoto_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士(歯学) 氏 名 山本 知真也

主査 教授 網塚 憲生
審査担当者 副査 教授 田村 正人
副査 教授 土門 卓文

学 位 論 文 題 名

Intermittent administration of teriparatide with high and low frequencies showed different histological profile of bone formation in mice

(マウスにおけるテリパラチド(PTH)の投与頻度の違いによる骨形成の組織学的変化について)

審査は、審査担当者全員の出席の下、はじめに申請者より提出論文の概要の説明が行われた。内容を以下に記す。

近年、開発されたテリパラチド(teriparatide:合成型 hPTH[1-34])は、わが国において、連日投与と週1回投与の二種類の処方が存在する。ところが、PTH 連日投与は骨形成マーカーと骨吸収マーカーを上昇させるが、PTH 週1回投与は骨形成マーカーを上昇させる一方、骨吸収マーカーを低下させることが報告されている。そこで、我々は、hPTH[1-34]の投与頻度の違いが骨の細胞群にどのような影響を及ぼすか組織化学的に検索した。

生後6週のマウスに hPTH[1-34]を 20 μ g/kg/日または 80 μ g/kg/日、あるいは、80 μ g/kg/回となるように2週間腹腔内投与した。マウスの骨代謝回転がヒトに比べて数倍高いという報告を踏まえて、hPTH[1-34]投与頻度を1回/2日、1回/日、2回/日、4回/日(以下、1回/2日、1回/日を低頻度群、2回/日、4回/日を高頻度群)とした。これらのマウスをアルデヒド溶液で灌流固定後、大腿骨を摘出し、通法にてパラフィンに包埋し、酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ(TRAP)の酵素組織化学、アルカリフォスファターゼ(ALP)、proliferating cell nuclear antigen(PCNA)の免疫組織化学を行った。エポキシ樹脂の未脱灰切片を用いて von Kossa 染色を、また、脱灰超薄切片を用いて透過型電子顕微鏡観察を行った。

hPTH[1-34]投与 80 μ g/kg/日群と 80 μ g/kg/回群において、投与頻度が高いほど大腿骨の骨量が増加しており、80 μ g/kg/日群と 80 μ g/kg/回群では明らかな組織学的な違いは認められなかった。このことから1日あたりの hPTH[1-34]総投与量を一定にした場合、投与頻度が高いほど、骨量が増加すると考えられた。しかし、高頻度投与では多孔化した皮質骨が認められたため、20 μ g/kg/日の hPTH[1-34]を用いて同様の実験を行った。その結果、80 μ g/kg/日と同様の結果を得られたが、低

頻度投与群では数は多くないが太く滑らかな骨梁が、また、高頻度投与群では多数の細い骨梁が発達していた。

TRAP 染色を行うと、低頻度投与群は破骨細胞の増加を示さなかったが、高頻度投与群は多くの破骨細胞を有しており、多数の TRAP 陽性セメントラインが形成されていた。ALP 染色を行うと、投与頻度が高くなるにつれて、ALP 陽性骨芽細胞と前骨芽細胞の厚い細胞層が発達していた。そこで、von Kossa 染色にて骨基質石灰化を検索すると、低頻度投与では von Kossa 染色陽性を示す緻密な石灰化骨基質が観察されたが、高頻度投与では幼弱な石灰化骨基質が広範囲に渡って形成されていた。以上から、高頻度では骨代謝回転型の骨リモデリングが誘導され、一方、低頻度投与では骨代謝回転はそれほど上昇しないと推察された。

次に ALP と細胞増殖マーカーである PCNA の二重染色を行うことで前骨芽細胞を同定し、また、骨芽細胞や破骨細胞の分布についても組織学的に検索した。その結果、高頻度投与群では、鋸歯状の骨表面に骨基質を活発に合成・分泌する活性型骨芽細胞が局在する一方、ALP/PCNA 陽性を示す前骨芽細胞の厚い細胞層が骨芽細胞を取り囲むように形成されており、その前骨芽細胞層の中には多数の破骨細胞・前破骨細胞が局在していた。一方、低頻度投与群では、骨リモデリングを示唆する部位も認められたが、滑らかに隆起した骨梁が形成され、その上には活性型骨芽細胞が局在し、骨基質内部にはアレストラインが観察されるといったミニモデリングに特徴的な組織像が認められた。よって、高頻度投与では骨代謝回転型の骨リモデリングによって、また、低頻度投与では、骨リモデリングだけでなくミニモデリングによっても骨形成が誘導されると推測された。

以上、hPTH[1-34]の一日の投与量を一定にした場合、投与頻度が高いほど、多くの骨梁および骨量が誘導されることが示唆された。また高頻度投与では活発な骨リモデリングで大量の骨を誘導するのに対して、低頻度投与では太くしっかりとした骨梁を形成していくと考えられた。

引き続き論文内容及び関連事項について、以下の項目を中心に質疑応答がなされた。

- (1) OVX マウスに hPTH[1-34]を投与した場合に、どのような結果が得られると考えられるか
- (2) 骨粗鬆症の予防に hPTH[1-34]は使用した場合に、どのような効果が得られると推測されるか
- (3) hPTH[1-34]の投与頻度の違いが骨質に与える影響について
- (4) 実際の臨床における hPTH[1-34]の使い分けについて
- (5) hPTH[1-34]の投与頻度の違いが骨芽細胞と破骨細胞のカップリングに与える影響について

本研究結果は重要な基礎科学的情報を提供しており、学術的にも高く評価されることが考えられた。加えて、上記の質疑応答から、申請者は本研究の内容を中心とした専門分野はもとより、関連分野について十分な理解と学識を有していることが確認された。

以上、審査担当者全員は、学位申請者が博士(歯学)の学位を授与するに値するものと認めた。