



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Enhanced Bone Anabolic Window with Increased Bone Formation by Abaloparatide Showed Greater Gains in Trabecular and Cortical Bone in Mice : A Comparison with Teriparatide [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	槇野, 彰人
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第13868号
Issue Date	2020-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/78606
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Akito_Makino_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 槇 野 彰 人

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 飯 村 忠 浩

学 位 論 文 題 名

Enhanced Bone Anabolic Window with Increased Bone Formation by Abaloparatide Showed Greater Gains in Trabecular and Cortical Bone in Mice: A Comparison with Teriparatide
(アバロパラチドは骨形成促進作用により骨アナボリックウインドウを拡大させ、マウスの海綿骨及び皮質骨を増加させるーテリパラチドとの比較ー)

審査は、審査担当者全員の出席の下、申請者より提出論文の概要の説明が行われ、審査担当者が提出論文の内容及び関連した学問分野について口頭により試問する形式で行われた。以下に論文内容と審査の要旨を述べる。

アバロパラチド（ABL）は、ヒト副甲状腺ホルモン関連タンパク質のN末端の34アミノ酸を一部改変したポリペプチドである。閉経後骨粗鬆症患者を対象とした臨床試験において、ABLはテリパラチド（TPTD、ヒト副甲状腺ホルモンのN末端の34アミノ酸、既存の骨粗鬆症治療薬）より骨密度を増加させた。この時、ABLはTPTDより骨形成、骨吸収の両マーカーに対する増加作用が弱く、骨アナボリックウインドウ（骨形成作用と骨吸収作用の差分、実質的な骨量増加作用）と骨密度増加の関係が明確でなかった。このため、本研究では、ABLの骨密度及び骨代謝に及ぼす作用についてマウスを用いて評価し、TPTDと比較した。比較の際、げっ歯類はヒトより骨代謝回転が数倍速いこと、両剤のヒトにおける投与頻度は1日1回であることを考慮し、両剤の投与頻度を1日1回から1日3回まで変化させて以下の実験を実施した。

実験では、6週齢の雄性C57BL6/JマウスにABL又はTPTDを28日間皮下投与した。両剤の1日当たりの投与用量を一定（30 µg/kg/day）とし、1日1回、1日2回又は1日3回の投与を実施した。投与開始日をDay 0とし、Day 26に大腿骨及び腰椎骨密度を測定した。Day 28に採血、採尿、解剖を行って大腿骨及び脛骨を採取し、骨代謝マーカーの測定や組織学的解析に用いた。また、遺伝子発現の解析を目的とした実験では、6週齢の雄性C57BL6/JマウスにABL又はTPTDを1日3回の投与頻度で9日間皮下投与した。最終投与2、4及び8時間後に大腿骨を摘

出し、RT-PCR法にて種々の遺伝子の相対発現量を定量した。

その結果、1日3回の投与により、ABLはTPTDより強い骨密度増加作用を示し、その差は有意であった。この時、マイクロCTによる解析から、ABLはTPTDより海綿骨及び皮質骨量が増加した。また、1日2回以上投与するとABLの方がTPTDより骨形成マーカーの増加作用が強かったが、骨吸収マーカーに対する増加作用は両剤間で有意な差は認められなかった。組織学的解析においても、1日3回の投与により、ABLはTPTDよりALP陽性面積（ALP⁺ area/total area）や骨形成速度（BFR/BS）が増加したが、TRAP陽性破骨細胞（N.Oc/BS）に対する増加作用については、ABLはTPTDの同等以下であった。さらに、遺伝子発現に対する作用については、1日3回の投与により、ABLはTPTDより骨形成関連遺伝子である*alpl*, *colla1*, *ephb4*の発現量が強く増加した。一方、破骨細胞の分化や骨吸収に関わる*rankl/opg*発現比や*trap*の発現量に対する増加作用は、両剤の作用に有意な差は認められなかった。

最後に、透過型電子顕微鏡観察にて、ABL投与群ではTPTD投与群より細胞突起が発達した前骨芽細胞が認められた。このことから、ABL投与群では、発達した細胞突起を介して前骨芽細胞と破骨細胞の接触が活発化し、Ephb4等を介して破骨細胞から前骨芽細胞に骨形成シグナルが伝達され、骨形成が優位に促進されている可能性が示唆された。

以上の結果より、ABLは骨形成と骨吸収に対する促進作用のバランスがTPTDより良好であり、TPTDより骨形成優位に骨代謝を促進することが示された。このため、げっ歯類とヒトの骨代謝回転の違いを考慮してマウスに1日3回の投与を実施すると、ABLはTPTDより広い骨アナボリックウィンドウを示し、臨床試験と同様に強い骨密度増加作用を示すと考えられた。

上記の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. 臨床におけるABLとTPTDの投与量の違いについて
2. ABLとTPTDのPTH1型受容体に対する結合様式の違いについて
3. ABLの皮質骨多孔化に対する作用について
4. ABLによる骨密度増加や骨構造改善が骨強度に及ぼす影響について
5. 前骨芽細胞における*ephb4*の発現について
6. ABLを休薬した場合の影響について

これらの質問に対して、学位申請者から明快な説明と回答が得られたとともに、今後の研究に対する展望が示された。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。