



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	骨形成促進薬テリパラチドによる骨粗鬆症性神経炎症抑制機構に関する薬理学的研究〔論文内容及び審査の要旨〕
Author(s)	庵, 敬
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第15499号
Issue Date	2023-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/89630
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Takashi_Iori_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 庵 敬

主査 教授 飯村 忠浩
審査担当者 副査 教授 網塚 憲生
副査 教授 北川 善政

学 位 論 文 題 名

骨形成促進薬テリパラチドによる骨粗鬆症性神経炎症抑制機構に関する薬理学的研究

審査は、審査担当者全員の出席のもと、Web形式の公聴会として行われた。はじめに申請者より提出論文の概要の説明が行われ、審査担当者が論文の内容およ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。

骨粗鬆症患者の腰背部痛に代表されるような、骨・関節の障害に由来する慢性疼痛は、骨格痛と呼ばれており、骨格痛による身体活動の制限はADLやQOLを著しく低下させる。PTH製剤：テリパラチド（TPTD）は、骨同化作用を発揮する骨粗鬆症治療薬である。TPTD治療による骨粗鬆症性疼痛の抑制が報告されているが、その薬理学的機序は明らかにされていなかった。当研究室の田中らは、薬理学的な研究およびトランスクリプトーム解析から、骨粗鬆症性の慢性疼痛には神経炎症が関与していることを明らかにした。本研究では、骨粗鬆症モデル動物である卵巣摘除ラットを用いて蛍光免疫染色による蛍光イメージング定量解析を行い、骨粗鬆症性慢性疼痛の組織・細胞レベルでの発症機序の解明に取り組んだ。

12週齢雌性SD系ラットに、卵巣摘除術（OVX）または偽（Sham）手術を行い、それぞれOVX群およびSham群とした。手術の4週間後、OVX群ラットを無作為にOVX-Vehicle投与群およびOVX-TPTD投与群として、さらに2群化した。TPTD投与群にはTPTDを、Vehicle投与群には生理食塩水を、週3回の間隔で4週間皮下投与した。Sham群には同様に生理食塩水を投与した。すなわち、Sham-Vehicle投与群、OVX-Vehicle投与群、OVX-TPTD投与群からなる3つの動物実験群を構築した。薬物投与終了後、第5腰椎部DRGおよび脊髄を採取・固定し、組織切片を作成した。組織切片に免疫組織化学染色を行い、比較検討を行った。

ミクログリアのマーカーである抗Iba1抗体を用いて、脊髄後角のミクログリア数を計測したところ、OVXによりミクログリア数は増加する傾向を示し、TPTDの投与により有意に減少した。次に、アストロサイトのマーカーである抗GFAP抗体を用いて、脊髄後角のアストロサイト数を計測したところ、OVXによりアストロサイト数は有意に増加し、TPTD投与により有意に減少した。また、抗CGRP抗体を用いて、一次感覚神経節である背側神経根（DRG）のCGRP陽性ニューロン数を計測したところ、CGRP陽性ニューロン数はOVXにより増加する傾向を示し、TPTD投与により有意に減少した。さらに、抗IL-11抗体を用いて、DRGにおけるIL-11の組織発現の局在を解析した結果、IL-11は一部のニューロンの微小管で発現していた。そこで、IL-11陽性微小管数を計測したところ、OVXによりIL-11陽性微小管数は有意に減少し、TPTD投与によりその減少は部分的に回復する傾向を示した。また、IL-11は、NF200での染色性が高いニューロンを取り囲む一部のサテライトグリア細胞（SGC）でも発現していた。IL-11陽性SGC数を計測すると、OVXによりIL-11陽性SGC数は有意に減少し、TPTD投与によりその減少は部分的に回復する傾向を示した。

我々の研究から、骨粗鬆症モデル動物において、脊髄後角ミクログリアおよびアストロサイトの活性化、DRGニューロンのCGRP発現亢進、DRGにおけるIL-11発現の低下が生じることが明らかとな

り、これらが骨粗鬆症性神経炎症の発症に関与していると考えられた。また、TPTD投与により、ミクログリアおよびアストロサイトの活性化抑制、DRGニューロンのCGRP発現抑制、DRGにおけるIL-11発現の部分的な回復が確認された。これらの結果から、閉経後骨粗鬆症誘導性の慢性疼痛の発症機序には、一次感覚神経節であるDRGにおけるCGRP陽性ニューロンを介した脊髄後角での神経炎症誘導が関与することが考えられた。また、この病態には抗炎症性サイトカインであるIL-11のニューロンおよびSGCにおける発現低下が関与することが示唆された。さらに、TPTDによる疼痛軽減効果には、CGRP陽性ニューロンの減少が神経炎症抑制効果の一端を担っている可能性が示唆された。

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. OVXで疼痛が生じるということは先行研究で実験的に示されているが、実際に疼痛があることを観察することは可能なのか。
2. 骨粗鬆症モデル同士の比較で、OVX と低 Ca 食とではどのような差異があると考えられるか。骨粗鬆症性慢性疼痛は低 Ca 食でも生じるか。
3. BP製剤とTPTDの疼痛抑制作用の違いは何か。
4. 骨粗鬆症性慢性疼痛の研究においてサブスタンスPの評価は行われているか。
5. TPTDは投与期間に上限があるが、TPTD投与終了後の骨粗鬆症治療および疼痛緩和についてどのように考えるか。
6. CGRPはC線維特異的だが、足底での疼痛関連行動試験の結果はA δ 線維によるものであるもので、OVXによるCGRPの増加は関係ないのではないか。
7. ミクログリアとアストロサイトがOVXで増加するのはなぜか。
8. TPTDによる疼痛抑制機構と脳は無関係か。
9. TPTDの投与頻度による疼痛抑制作用の差異はあると考えられるか。

これらの質問に対して、申請者から明解な説明と回答がなされ、さらに今後の研究に対する展望が示された。申請者の論文は、骨粗鬆症性慢性疼痛の発症機序およびTPTDによる骨粗鬆症性神経炎症抑制機構の解明に寄与するものと評価され、審査担当者全員は、申請者が博士（歯学）の学位を授与されるに相応しいと認めた。