







学位論文審査の結果の要旨

審査区分 ① 課 ・ 論	第 696 号	氏 名	高 瀬 良 太
審 査 委 員 会 委 員	主査氏名	波多野 豊	
	副査氏名	森 晋二郎	
	副査氏名	渡邊 哲生	
論文題目			
The effects of romosozumab combined with active vitamin D3 on fracture healing in ovariectomized rats (卵巣摘出ラットにおける骨折治癒に対するロモソズマブと活性型ビタミン D3 併用療法の効果)			
論文掲載雑誌名 Journal of Orthopaedic Surgery and Research			
論文要旨			
<p>【目的】抗スクレロシン抗体であるロモソズマブは強い骨形成促進作用があり、重症骨粗鬆症に使用されている。一方、骨癒合促進効果については不明な点が多い。本研究の目的は、卵巣摘出ラット骨折モデルに対してロモソズマブと活性型ビタミン D3 の併用療法の骨折治癒促進効果について検討することである。</p> <p>【方法】24 週齢の雌 Sprague-Dawley ラットに対して卵巣摘出術を実施し、骨粗鬆症モデルを作成した。8 週後、大腿骨骨切り術及び髓内釘固定を行った。その後、コントロール群 (C 群)、ロモソズマブ群 (R 群)、ビタミン D 群 (VD 群)、R+VD 群の 4 群に分けた。介入後 10 週目に血液、両大腿骨を採取した。骨癒合の評価 (軟 X 線撮影後に 4-point scale と RUST 法)、病理組織学的評価 (トレイジンブルー染色)、骨形態評価 (micro-CT)、骨強度試験 (3 点曲げ試験) 及び、骨代謝マーカー (ELISA) 評価を施行した。【結果】大腿骨非骨折側の骨形態評価では、R+VD 群は、R 群と同等か、それ以上の海綿骨の量と厚さ、骨梁の数は増加した。また、VD 群は C 群と同等の効果を示した。一方、皮質骨の骨量や面積、厚さ、及び骨強度に有意な差を認めなかった。骨折側においては各群間の 4-point scale や RUST 値に有意な差を認めなかった。骨折側の病理組織学的評価では R 群及び R+VD 群に軟骨内骨化を伴わない成熟した仮骨が形成されていた。大腿骨骨折側の骨形態評価では、骨折周囲の仮骨量は R+VD 群に比べて R 群が有意に増加していた。骨代謝マーカーは各群間で骨形成・骨吸収マーカーに差を認めなかった。【考察】非骨折側において R 群または R+VD 群で骨の形態的改善を認め、ロモソズマブは十分に作用したと考えられた。また、VD 群においては C 群と同程度であり、活性型ビタミン D3 の負の効果は認めなかった。しかしながら、ロモソズマブ単独あるいはロモソズマブ+活性型ビタミン D3 の併用療法は骨癒合に対して効果が乏しい結果であった。骨折側では R 群の仮骨量は増加したが、骨癒合は得られず、R+VD 群は R 群より仮骨量が少ない結果となった。ロモソズマブの骨折治癒促進効果については動物実験では意見は分かれており、またヒトの臨床研究ではすべてで否定的である。ロモソズマブはモデリングに基づき骨形成を促すため、骨折治癒に対して効果が少ない可能性がある。また、ビタミン D3 がリモデリングに影響した可能性を示唆した。【結語】ロモソズマブ単独、ロモソズマブ+活性型ビタミン D3 の併用療法は、骨折治癒促進に効果を示さない可能性がある。</p> <p>本研究は、骨形態評価結果と病理学的評価やバイオマーカー測定結果との整合性が認められず骨形態への影響の基盤となる機序解明作業を要するが、ロモソズマブの臨床研究の結果を反映しているとも言え、ロモソズマブの有効な使用法の探索をする上での有用なモデルと知見を提供している。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。</p>			

最終試験
の結果の要旨
~~学力の確認~~

審査区分 (課)・論	第696号	氏名	高瀬良太
審査委員会委員	主査氏名	波多野 豊	
	副査氏名	森 晋二郎	
	副査氏名	渡邊 哲生	
<p>学位申請者は本論文の公開発表を行い、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。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 大腿骨の骨折部位を大腿骨頭ではなく中部にした理由 2. ラットの骨折作成において骨膜を剥離した理由と膜性骨化の影響について 3. 病理組織学実験におけるVit Dの解釈 4. マイクロCT実験において、骨折骨と非骨折骨における測定位置の違いとその影響について 5. マイクロCT実験について、骨折骨と非骨折骨の結果の違いについて 6. 病理組織学実験とマイクロCT実験の結果の相違について 7. 具体的な検討はないが、NF-κBと骨形成は関連があるのか。 8. romosozumab投与より破骨細胞活性が低下するということが、骨融合に悪影響を与えるということと矛盾しないか。 9. ラットの手術操作はconventionalの環境下で行っているのか、計40匹を1回で行ったのか少数のグループに分けて行ったのか、死亡したラットはいなかったか。 10. 組織学的検討で軟骨の状態を評価するためトルイジンブルー染色を選択したのか。 11. 仮骨形成と骨強度が良好であっても骨癒合が不良ということは相反すると思われるが、いかがか。 12. 本研究では膜性骨化を評価出来ないモデルだが、ヒトにおける膜性骨化の意義は？ 13. リモデリングとモデリングの機序について、骨形成と骨癒合の観点から説明して下さい。 14. 卵巣摘出の身体への影響について 15. 骨癒合の評価ではばらつきが大きく有意差が得られていないが、実験モデルとして妥当か？ 16. 骨代謝マーカーに有意差は得られていないが、投与薬が十分な薬理効果を示していない可能性はないか？もしそうであれば本研究の目的に照らした妥当なモデルと言えない可能性があるがどう考えるか？ 17. 今回、組織学的評価はトルイジンブルー染色のみでこの結果は生理学的な結果を反映していないが、新血管形成など他の組織学的評価を加えてはどうか？ 18. 今回の研究結果を受けて、今後の研究発展の展望について教えて下さい。 <p>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。</p>			

(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 高瀬 良太

論 文 題 目

The effects of romosozumab combined with active vitamin D₃ on fracture healing in ovariectomized rats

(卵巣摘出ラットにおける骨折治癒に対するロモソズマブと活性型ビタミン D₃併用療法の効果)

要 旨

【目的】抗スクレロスチン抗体であるロモソズマブは強い骨形成促進作用があり、重症骨粗鬆症に使用されている。一方、骨癒合促進効果については不明な点が多い。本研究の目的は、卵巣摘出ラット骨折モデルに対してロモソズマブと活性型ビタミン D₃ の併用療法の骨折治癒促進効果について検討することである。

【方法】24週齢の雌 Sprague-Dawley ラットに対して卵巣摘出術を実施し、骨粗鬆症モデルを作成した。8週後、大腿骨骨切り術及び髄内釘固定を行った。その後、コントロール群 (C群)、ロモソズマブ群 (R群)、ビタミン D 群 (VD 群)、R+VD 群の4群に分けた。介入後10週目に血液、両大腿骨を採取した。骨癒合の評価は軟 X 線撮影後に 4-point scale と RUST 法を用いた。病理組織学的評価にはトレイジンブルー染色を用い、骨形態評価は micro-CT を使用した。骨強度試験は3点曲げ試験を行い、骨代謝マーカーは ELISA を用いて測定した。

【結果】大腿骨非骨折側の骨形態評価では、R+VD 群は、R 群と同等か、それ以上の海綿骨の量と厚さ、骨梁の数は増加した。また、VD 群は C 群と同等の効果を示した。一方、皮質骨の骨量や面積、厚さ、及

び骨強度に有意な差を認めなかった。骨折側においては各群間の 4-point scale や RUST 値に有意な差を認めなかった。骨折側の病理組織学的評価では R 群及び R+VD 群に軟骨内骨化を伴わない成熟した仮骨が形成されていた。大腿骨骨折側の骨形態評価では、骨折周囲の仮骨量は R+VD 群に比べて R 群が有意に増加していた。骨代謝マーカーは各群間で骨形成・骨吸収マーカーに差を認めなかった。

【考察】非骨折側において R 群または R+VD 群で骨の形態的改善を認め、ロモソズマブは十分に作用したと考えられた。また、VD 群においては C 群と同程度であり、活性型ビタミン D₃ の負の効果は認めなかった。しかしながら、ロモソズマブ単独あるいはロモソズマブ+活性型ビタミン D₃ の併用療法は骨癒合に対して効果が乏しい結果であった。骨折側では R 群の仮骨量は増加したが、骨癒合は得られず、R+VD 群は R 群より仮骨量が少ない結果となった。

ロモソズマブの骨折治癒促進効果については動物実験では意見は分かれており、またヒトの臨床研究ではすべてで否定的である。ロモソズマブはモデリングに基づき骨形成を促すため、骨折治癒に対して効果が少ない可能性がある。また、ビタミン D₃ がリモデリングに影響した可能性を示唆した。

【結語】ロモソズマブ単独、ロモソズマブ+活性型ビタミン D₃ の併用療法は、骨折治癒促進に効果を示さない可能性がある。