

審査の結果の要旨

氏名 徳山 直人

本研究は、閉経後骨粗鬆症モデルマウスにおいて抗 RANKL 抗体による RANKL 中和が骨組織に及ぼす影響を詳細に明らかにするとともに、抗 RANKL 抗体とテリパラチドの併用療法の効果について解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. *in vitro* 系で、抗 RANKL 抗体の破骨細胞分化に対する影響を検証するため、共存培養系にて破骨細胞を培養し破骨細胞分化について解析した。抗 RANKL 抗体を添加しないコントロール群で大多数の破骨細胞が成熟に至った時点で TRAP 染色を行ったところ、コントロール群で成熟破骨細胞が多数存在していたのに対し、抗 RANKL 抗体添加によって濃度依存性に破骨細胞分化が有意に抑制されていた。以上の結果から、*in vitro* 系で抗 RANKL 抗体は濃度依存性に強力に破骨細胞分化を抑制していることが確認された。

2. *in vivo* 系で、閉経後骨粗鬆症モデルマウスにおける抗 RANKL 抗体及び PTH (テリパラチド) が骨代謝に及ぼす影響を解析した。まず骨密度に関しては大腿骨遠位部においては、抗 RANKL 抗体 (Ab) 群及びテリパラチド (PTH) 群では OVX 群と比較して骨密度は有意に増加していた。さらに両薬剤の併用群 (Ab + PTH) 群では Ab 群及び PTH 群と比較して BMD は有意に増加していた。大腿骨骨幹部では、PTH 群及び Ab + PTH 群は OVX 群及び Sham 群と比較して有意に骨量が増加していたのに対して、Ab 群では BMD の有意な増加は認めなかった。腰椎では、Ab 群及び Ab + PTH 群では OVX 群、Sham 群と比較して BMD は有意に増加していた。

3. 次に骨代謝回転における影響を検討するため骨吸収マーカーの血清 CTx-I、骨形成マーカーの血清オステオカルシンを測定したところ、血清 CTx-I は Ab 群及び Ab + PTH 群においては PTH 群及び OVX 群と比較して有意に抑制されていた。血清オステオカルシンは PTH 群において OVX 群と比較して有意に増加していたが、Ab 群及び Ab + PTH 群の両群ともに OVX 群と比較して有意な上昇は認めなかった。これらの骨代謝マーカー測定による結果から、閉経後骨粗鬆症モデルマウスにおける骨代謝回転は抗 RANKL 抗体によって高度に抑制され、さらに抗 RANKL 抗体にテリパラチドを追加投与しても、テリパラチド単独投与した場合と異なり骨吸収は低いレベルに抑制されることが判明した。

4. 組織学的解析では、大腿骨遠位部の Toluidine blue 染色において、Ab 群及び PTH 群ともに骨幹端の海綿骨領域で骨量が増加していた。そのうち、Ab 群では主に一次海綿骨領域の骨量が増加していたのに対して PTH 群では主に二次海綿骨領域で骨量が増加し、Ab + PTH 群では一次海綿骨及び二次海綿骨領域の両領域で骨量が増加していた。大腿骨遠位部の TRAP 染色では、Ab 群及び Ab + PTH 群で TRAP 陽性破骨細胞は著明に減少していたのに対して PTH 群では増加していた。

5. 骨形態計測では、大腿骨遠位部の海綿骨領域における骨量 (BV/TV) は Ab 群、PTH 群で有意に増加し、Ab + PTH 群では相加的な増加を示していた。Ab 群では破骨細胞パラメータである浸食面 (ES/BS)、破骨細胞数 (OcN/BS)、破骨細胞面 (Oc.S/BS) と同様に、骨芽細胞パラメータである類骨量 (OV/BV)、類骨面 (OS/BS)、骨芽細胞面 (Ob.S/BS)、骨石灰化速度 (MAR)、骨石灰化面 (MS/BS)、骨形成速度 (BFR/BS) は著明に減少していた。そしてそれらのパラメータは Ab+PTH 群でも同様に減少していた。大腿骨骨幹部の皮質骨領域の外側骨膜表面 (periosteal surface) において PTH 群では MAR、MS/BS、BFR/BS は著明に増加していたのに対して、Ab + PTH 群では強力に抑制されていた。一方、皮質骨の内側骨膜表面 (endosteal surface) においても Ab + PTH 群では MAR、MS/BS、BFR/BS が有意に減少しており、皮質骨では periosteal surface と endosteal surface の両領域ともに抗 RANKL 抗体とテリパラチドの併用による相加効果は認めなかった。

以上、本論文は破骨細胞培養系において抗 RANKL 抗体は破骨細胞分化を強力に抑制すること、また閉経後骨粗鬆症モデルマウスにおける抗 RANKL 抗体及びテリパラチドの骨代謝に及ぼす影響の解析結果から、海綿骨では抗 RANKL 抗体とテリパラチドによりそれぞれ単独で骨密度増加効果を認め、組織学的解析によってそれぞれ一次海綿骨と二次海綿骨という異なる領域の骨密度が増加しており、両薬剤の併用によって一次海綿骨及び二次海綿骨の両領域が共に増加した結果、相加的な骨密度増加効果となっていたことを明らかとした。本研究の成果は、今後ますます増加の一途をたどる骨粗鬆症の効率的な治療戦略を考える上で重要な情報を与えるものと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。