

一般演題抄録

I-2 テリパラチドによる脊柱靱帯骨化症患者由来間葉系幹細胞の骨分化促進に関する検討

○荒木 亮¹⁾ 浅利 享¹⁾ 工藤 整²⁾ 和田 簡一郎¹⁾ 熊谷 玄太郎¹⁾佐々木 綾子¹⁾ 古川 賢一¹⁾ 石橋 恭之¹⁾(弘前大学大学院医学研究科整形外科科学講座¹⁾ むつ総合病院整形外科²⁾)

【目的】後縦靱帯骨化症(OPLL)は 圧迫性脊髄障害、神経根症状、頸椎可動域制限によって 運動機能障害を呈する疾患である。本疾患の病態としては、脊柱靱帯内の間葉系幹細胞(MSCs)が異所性骨化へ関与していると我々は報告してきた。近年、骨粗鬆症治療薬としてテリパラチド(TPD)が実臨床で用いられており、間欠的投与で骨同化作用を有し、骨形成促進薬として効果を発揮している。靱帯骨化症モデルマウスに TPD を投与し異所性靱帯骨化が促進したとの報告があるが、OPLL 患者に対する TPD 投与の安全性は十分検証されていない。本研究の目的は OPLL 患者脊柱靱帯由来 MSCs の骨分化に 対する TPD 投与の影響を検討することである。

【方法】手術中に切除された OPLL 患者の頸椎黄色靱帯から MSCs を抽出して培養し 5 継代目を実験に用いた。培養細胞がコンフルエントに達した後、骨分化誘導培地で培養し、各濃度の TPD(3nM、10nM、30nM)を週 1 回間欠投与し、3 週間培養した。対象群として頸椎症性脊髄症(CSM)患者由来 MSCs も同様のプロトコルで培養を行った。Alizarin red 染色を行い、吸光度を測定した。Total RNA を抽出し RT-PCR を行った。非骨分化誘導培地の TPD 非投与下で培養した CSM 患者由来 MSCs をコントロールとして、 $\Delta \Delta CT$ 法を用いて TPD 各濃度における骨化関連遺伝子(OCN、OSX、OCN、RUNX2、BMP2)の相対的発現量を測定した。TPD の各濃度間での比較を Friedman 検定で、CSM と OPLL の 2 群間の比較には Mann-Whitney U 検定を用いて比較した。

【結果】OPLL 由来 MSCs において Alizarin red 染色の吸光度測定値は TPD 非投与で 1.85、TPD 投与(3nM、10nM、30nM)でそれぞれ 1.68、1.64、1.60 であった。濃度依存性に吸光度の低下を認めたが、4 群間の比較では有意差を認めなかった($P=0.277$)。また OCN、OSX の発現量は TPD 非投与がそれぞれ 54.5 倍、79.6 倍であるのに対して TPD30nM 投与でそれぞれ 110.3 倍、119.3 倍と増加していたが、TPD 各濃度間での遺伝子発現量に 有意差は認めず($P=0.178$, $P=0.266$)、他の遺伝子発現量も同様であった($P>0.05$)。CSM と比較し吸光度、遺伝子発現ともに OPLL で高い傾向であった。しかし OSX 発現量が TPD 非投与で OPLL の方が有意に高かった($p=0.047$)以外は 2 群間に有意差を認めなかった($P>0.05$)。

【考察】本研究の Alizarin red 染色および遺伝子発現の結果からは OPLL 患者由来 MSCs への TPD 投与による骨分化促進効果は明らかではなかった。これらの結果から OPLL 患者への TPD 投与は異所性骨化を促進しない可能性が示唆された。しかし本投与方法では TPD の骨形成作用が再現されていない可能性を否定できず、投与方法については再検討を要すると考えられた。