

合成骨形成蛋白の骨形成能を臨床実用化するための 統合的技術の開発

Comprehensive Study to Realize Clinical Use of Bone
Morphogenetic Protein for Regeneration of Skeletal Defects.

高岡 邦夫 (TAKAOKA KUNIO)

大阪市立大学・大学院医学研究科・教授



研究の概要

骨形成蛋白(BMP)は未分化間葉系細胞を骨芽細胞に分化誘導する生理活性蛋白であり、既に遺伝子組換え技術によって生産されている。しかし、その骨再生修復への応用技術に関しては問題が残っており、それらを解決してより完全で汎用性が高い生命科学技術をして確立し、その臨床応用での有効かつ安全な基本的技術を開発すること。

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・整形外科学

キーワード：骨形成、骨再生、骨形成タンパク、人工関節、骨欠損修復

1. 研究開始当初の背景・動機

骨組織にはある程度の再生能がある。この再生能を担う分子とされる骨形成蛋白 (bone morphogenetic protein, BMP) が同定され、遺伝子組み換えによって生合成されている。この蛋白分子をヒト生体内で有効に作用させて骨欠損や骨損傷の修復促進に応用する新しい医療技術とする試みられているが、安全性や経済性に問題が残っている。これらを抜本的に改善することが求められている。これらの問題が解決できれば骨疾患治療や骨再生促進に広く応用できる可能性が高い。

2. 研究の目的

BMPは現時点で欧米では限定された疾患治療対象(脊椎固定、重度の開放骨折、難知性骨折)に実用化されているが、問題点が残されている。主な問題点として、DDSにウシ由来のコラーゲンが使われており、プリオン病や抗原性の危惧があり、また力学的強度不足が指摘されている。その改善のために本研究ではDDSとして有用性の高い人工合成担体を開発した。また現在の遺伝子組み換え動物細胞(CHO)での合成BMPは高価であり汎用されていない実態改善のため安価なBMP生産法の取得が必要である。これらの問題を解決し、安価な汎用性の高い医療技術とすることを主な目的とした。具体的には

- i) 有効性、安全性に優れた薬物伝達系 (drug delivery system, DDS) の開発。
- ii) 臨床応用に有利なDDSの剤形改良。
- iii) BMPの生物活性を増幅する作用のあ

る薬剤の検索。

IV) BMP/DDS複合体の骨欠損修復活性の種々のモデルでの検証

V) BMP/DDS複合材料の臨床使用にあたっての有効性、安全性を担保するための前臨床試験の実施。

VI. 臨床治験での有効性、安全性の検証。であり、このうち本研究期間には i) ~IV) までを完遂する。

3. 研究の方法

1) 当初は遺伝子組み替え体 BMP-2 としてアメリカ合衆国 Wyeth 社から提供された BMP-2 を使用していたが、最近では我々と提携したドイツの Sebald 博士から提供されている。

2) BMPの合成担体 (polylactic acid-polyethylene glycol block Copolymer, PLA-PEG) は多木化学研究所との共同研究で開発した。この polymer の BMPの担体としての有用性はすでに報告している。

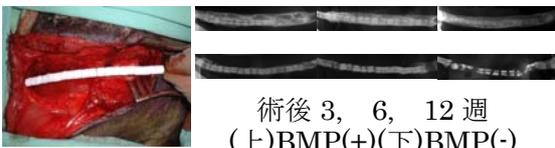
3) 生体吸収性多孔性生体材料である β -tricalcium phosphate (β TCP) と BMP-2, PLA-PEG の三者の複合体を作成し、操作性に優れ、汎用性が高い骨形成促進材料とする事を試み成功した。さらに修復対象の骨欠損の形態に一致した大きさ形状のコンピューター画像をCTデータから作成し、コンピューター支援デザインシステムで生体材料の切削によって作成し、その表面にこのペースト状骨形成促進材料を塗りこんで骨欠損修復を個別化して正確に行えるシステムとした

4. 研究の主な成果

1) rhBMP の人工合成担体とし我々が開発した PLA-PEG polymer (Nature Biotechnology, 19:332-335, 2001) と TCP との複合体の開発を行った。円柱状多孔性ブロック体と PLA-PEG, rhBMP の複合体を用いて、ウサギ大腿骨幹部の骨欠損修復及びビーグル犬の 8cm の肋骨欠損修復が再現性よく可能であることを確認し、学術誌に報告した。



(手術方法) 12 週後 (対照) (修復側)

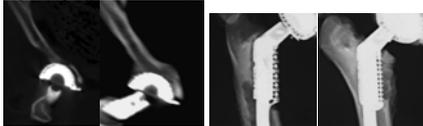


(ビーグル犬肋骨再生モデル)

2) rhBMP 及びその担体をさらに広く利用できるように rhBMP, PLA-PEG polymer と粉末状 TCP を至適比率で混合し粘土状に成形し効率よく BMP の活性を発現させることを確認し、不定形の骨欠損の修復に利用する事を試み成功した。特に現在大きな問題となっている人工関節再置換手術時に見られる人工関節周囲の大きな骨欠損修復をビーグル犬のモデルで行い良好な結果であり臨床応用が期待できる



(人工関節再置換術時の骨損修復モデルと術中写真) イヌモデル



3) 粘土状 rhBMP 含有インプラントによる脊椎固定(ヒツジモデル)。ヒツジ腰椎の後側方固定を行った。rhBMP 7mg で両側の脊椎固定が可能であることを確認した。



4) rhBMP の活性促進活性を有する薬剤の検索。我々はこれまでに rhBMP の骨誘導活性を増幅する作用がある薬剤として細胞内 cAMP の分解酵素

(phosphodiesterase-4) の阻害剤である rolipram が有効である事を報告した。その後細胞内 cAMP を上昇する薬剤(副甲状腺ホルモン剤、PGE2-EP4 受容体 agonist など)が共通して rhBMP の作用を増幅することを明らかにした。すなわち cAMP/PKA 系シグナル伝達系の rhBMP による核内での転写活性調節機能に関わっていることを分子レベルで明らかにした。

5. 得られた成果の世界・日本における位置づけとインパクト

RhBMP は欧米では限定した対象疾患に使用が認められているが、問題点として、担体としてウシ由来のコラーゲンが使われていること、rhBMP の価格が高い事で、骨再生修復に汎用されるに至っていない。我々の研究結果はこれらの問題点を解決しており、今後の rhBMP の臨床での汎用に向けて製品化を行う予定である。

6. 主な発表論文

(研究代表者は太字、研究分担者には下線)

1. Enhancing effects of prostaglandin EP4 receptor agonist on recombinant human bone morphogenetic protein-2

mediated spine fusion in a rabbit model. Namikawa T, Twrai H, Hoshino, M, Kato, M, Toyoda H, Yano K, Nakamura H, and Takaoka K. Spine 32: 2294-2299, 2007.

2. Prostaglandin E2 EP4 agonist (ONO-4819) accelerates BMP-induced osteoblastic differentiation. Nakagawa, K, Imai, Y., Ohta, Y and Takaoka, K. Bone 41: 543-548, 2007.

3. Repair of bone defects in revision hip arthroplasty by implantation of a new bone-inducing material comprised of recombinant human BMP-2, betaTCP and biodegradable polymer. An experimental study in dogs. Hoshino M, Namikawa T, Kato H, Taguchi S and Takaoka K. J Orthop. Res. 25: 1042-105, 2007

4. Repair of long intercalated defect using porous beta-tricalcium phosphate cylinders containing recombinant human bone morphogenetic protein-2 in dogs. Hoshino, M, Egi, T, Terai, H, Namikawa, T, and Takaoka, K. Biomaterials 27: 4934-4940, 2006.

5. Ectopic bone formation in mice associated with a lactic acid/dioxanone/ethylene glycol copolymer-tricalcium phosphate composite with added recombinant human bone morphogenetic protein-2.

Kato, M, Namikawa, T, Terai, H, Hoshino, M, Miyamoto, S, and Takaoka, K. Biomaterials 27: 3927-3933, 2006.