



Title	薬剤関連顎骨壊死は制御型T細胞の減少によって生じる [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	杉山, 孝博
Citation	北海道大学. 博士(歯学) 甲第13058号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	<a href="http://hdl.handle.net/2115/70716">http://hdl.handle.net/2115/70716</a>
Rights(URL)	<a href="https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/</a>
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Takahiro_Sugiyama_abstract.pdf (論文内容の要旨)



[Instructions for use](#)

# 学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（歯学） 氏名 杉山 孝博

## 学位論文題名

薬剤関連顎骨壊死は制御型 T 細胞の減少によって生じる

ビスホスホネート（Bisphosphonate：BP）製剤は骨粗鬆症、転移性乳癌や転移性前立腺癌に伴う骨痛や病的骨折などの骨関連事象、悪性腫瘍に伴う高カルシウム血症や多発性骨髄腫などの治療において臨床効果の高い薬剤として使用されている。しかし、これらの有効性にもかかわらず、抜歯などの外科処置後に重篤な副作用として顎骨壊死が発症することが報告された。この BP 製剤に関連した顎骨壊死は BRONJ（Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: BRONJ）として広く認知され、本邦においても多数の発症例が報告されている。さらに、BP 製剤と全く作用機序が異なる骨吸収抑制薬である抗 RANKL モノクローナル抗体製剤のデノスマブや血管新生阻害薬においても顎骨壊死が発症することが報告されている。骨吸収抑制薬によって引き起こる顎骨壊死は、薬剤関連性顎骨壊死（Medication-related osteonecrosis of the jaw: MRONJ）と総称されて現在に至っている。

MRONJ は一旦発症すると重篤な症状を呈することから、骨吸収抑制薬を服用している患者における歯科治療は慎重な対応を行うことが求められている。しかし、MRONJ は最初の報告から 15 年以上が経過しているにも関わらず、発症機序、発症リスク因子、休薬の是非、ならびに治療法などについては未だに統一した見解は得られていない。これは、MRONJ が BP 製剤のみならず、抗 RANKL モノクローナル抗体製剤、血管新生阻害薬など、作用機序の全く異なる薬剤の副作用として発症しているためである。さらに、MRONJ の発症患者では複数の疾患を併発していることが多いことから、MRONJ 発症における本質的な病態生理に対する理解をより困難なものとしている。しかし、エビデンスに基づいた発症リスク因子の同定、休薬の是非ならびに治療法を確立するためには、臨床的関連性の高い顎骨壊死動物モデルを用いて病態生理を解析し、発症機序を明らかにする必要がある。そこで、本研究では、MRONJ の発症機序を明らかにすることを目的に、MRONJ を発症するマウスモデルを作製し、発症機序の検討を行った。

MRONJ 発症機序を解明するために、これまでいくつかの MRONJ 発症マウスモデルが報告されている。これらのマウスモデルの特徴は BP 製剤のみの投与では MRONJ 様症状が発現せず、別の薬剤を併用するか遺伝子操作マウスを使用していることである。これらの知見から、ヒトにおいても MRONJ は BP 製剤のみの副作用によって起こるものではなく、何らかの他の因子との相互作用によってはじめて発症することが示唆された。つまり、MRONJ 発症機序を解明するためには、初めにマウスモデルで BP 製剤と相互作用を引き起こす薬剤を見出すことが重要であると思われたため、本論文では、MRONJ の原因となる代表的な BP 薬剤であるゾレドロン酸と化学療法薬であるメルファランを野生型マウスである C57BL/6J に投与

し、MRONJ が発症するか検討を行った。その結果、ゾレドロン酸もしくはメルフアランの単独投与では、抜歯後には MRONJ 様症状は発症せずに抜歯窩の上皮は正常に治癒した。一方、ゾレドロン酸とメルフアランの両薬剤を投与したマウスでは、ほぼ半数のマウスで抜歯窩の上皮が閉鎖せずに顎骨が露出しており、MRONJ 症状の特徴を有していた。また、顎骨の組織像を解析したところ、顎骨内では骨細胞が喪失した骨小腔が観察された。興味深いことに、抜歯窩の上皮が閉鎖しているマウスにおいても、組織像では骨細胞が喪失している骨小腔が存在していることが判明した。組織切片上で、骨細胞が喪失している骨小腔が連続して 5 個以上の隣接する範囲を顎骨壊死部と判定し顎骨壊死面積を計測したところ、上皮が閉鎖したマウスと上皮が閉鎖しなかったマウスでは両群間には有意差は認められなかった。つまり、ゾレドロン酸とメルフアランの両薬剤を投与した全てのマウスでは、組織学的に顎骨内で MRONJ 症状が進行していることが明らかになった。臨床においても顎骨露出はないが疼痛などの MRONJ 症状を訴える場合があり、米国口腔顎顔面外科学会の診断基準では、骨露出はないが MRONJ 症状を呈する症例をステージ 0 としている。本研究で作製した MRONJ 発症マウスモデルは、ヒトのステージ 0 の MRONJ を解析するうえで適切なモデルであると考えられた。

MRONJ 発症機序を解明するために、ゾレドロン酸とメルフアランの両薬剤の投与したマウスの免疫細胞の動態について検索を行った。その結果、ゾレドロン酸とメルフアランの両薬剤を投与したマウスでは、薬剤非投与のマウスと比較して脾臓中の制御型 T 細胞 (Treg 細胞) が減少していることが判明した。さらに、ゾレドロン酸とメルフアランの両薬剤を投与したマウスでは、薬剤非投与のマウスと比較して末梢血中の  $\gamma \delta$  T 細胞が増加していることが判明した。近年、 $\gamma \delta$  T 細胞は、BP 製剤によって活性化し、活性化した  $\gamma \delta$  T 細胞は細胞障害性を示すことが知られている。一方、Treg 細胞は過剰に活性化した免疫細胞を抑制する作用があり、その標的の免疫細胞の一つが  $\gamma \delta$  T 細胞である。以上のことから、本論文で作製した MRONJ 発症マウスモデルでは、メルフアランの副作用で Treg 細胞の機能が低下し、さらにゾレドロン酸により刺激された  $\gamma \delta$  T 細胞が増殖・活性化、この活性化した  $\gamma \delta$  T 細胞による過剰な免疫反応の結果、発症したものと推察された。

Treg 細胞を移植することで MRONJ 症状が軽症化するか検証するために、健全マウスの脾臓から採取した Treg 細胞をゾレドロン酸とメルフアランの両薬剤を投与したマウスに対して移植を行った。その結果、Treg 細胞移植群では Treg 細胞数が薬剤非投与群の値まで回復し、同時に、 $\gamma \delta$  T 細胞数は薬剤非投与群の値まで低減していた。さらに、Treg 細胞移植群の顎骨の組織像を解析したところ、顎骨壊死面積は Treg 細胞非移植群と比較し有意に減少していた。この MRONJ 症状の軽症化は移植した Treg 細胞によって、ホスト側の Treg 細胞と  $\gamma \delta$  T 細胞の不均衡が改善されたことによるものと推測された。

骨吸収抑制薬は多発性骨髄腫や癌の骨転移に対する骨関連症状を改善し患者の QOL の改善に重要な薬剤である。近年の高齢化社会において国内だけでも約 1300 万人と推定される骨粗鬆症患者の多くが何らかの骨吸収抑制薬を服用していることから、これら薬剤の副作用である MRONJ の発生は今後さらに重大な問題となることが予想される。ヒトの MRONJ も本論文で明らかにした作用機序で発症している可能性も高く、実際に MRONJ を発症している患者の Treg 細胞と  $\gamma \delta$  T 細胞の動態を検討する必要があるが、Treg 細胞移植による免疫治療が MRONJ の予防に有効であることが示唆された。