



Title	Anti-RANKL Ab induces osteonecrosis of the jaw in mice via imbalance of immune responses [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	中村, 裕介
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第12166号
Issue Date	2016-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/62221
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Yusuke_Nakamura_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（歯学） 氏 名 中村 裕介

主査 教授 北川 善政
審査担当者 副査 教授 鈴木 邦明
副査 教授 柴田 健一郎

学 位 論 文 題 名

Anti-RANKL Ab induces osteonecrosis of the jaw in mice
via imbalance of immune responses

（抗 RANKL 中和抗体が関与した顎骨壊死は免疫応答の不均衡によって引き起こされる）

審査は、審査担当者全員の出席の下、はじめに申請者より提出論文の概要の説明が行われ、審査担当者が提出論文の内容および関連した学問分野について口頭により試問する形式で行われた。申請者は論文の概要を以下のように説明した。

デノスマブは RANKL 分子を標的する完全ヒト型モノクローナル抗体であり、現在、骨粗鬆症を含む様々な骨関連疾患の治療薬として使用されている。近年、デノスマブ使用患者において歯科的侵襲を契機とした顎骨壊死が発症することが報告されている。そこで、デノスマブと顎骨壊死発症との因果関係を明らかにするためマウス抗 RANKL 中和抗体（以下、anti-R）を用いて顎骨壊死モデルマウスを作製し、顎骨壊死発症の作用機序について検証を行った。

生後 4 週齢の C57BL/6J 雌性マウスに卵巣摘出手術を施行し、骨粗鬆症モデルマウスを作製した。卵巣摘出術 4 週間より anti-R (0.1、0.4、1.0 mg/kg) ならびにメルファラン（以下、Mel ; 7.0 mg/kg）の腹腔内投与（週 1 回）を開始し、その 1 週後に左上顎第 1 臼歯を抜去した。抜歯後も薬剤の投与を週 1 回継続し、抜歯 4 週後にマウスを安楽死させ、抜歯窩、胸腺の状態ならびに末梢の T 細胞の動態について検索を行った。

anti-R (1.0 mg/kg) /Mel 投与時の μ CT、組織学的所見によって顎骨壊死モデルマウスを作製することに成功した。また、低濃度 anti-R (0.1、0.4 mg/kg)、anti-R (1.0 mg/kg) 単独もしくは Mel 単独投与では、完全に抜歯窩被覆上皮が治癒し、明らかな顎骨壊死は認められなかった。また、anti-R (0.1、0.4、1.0 mg/kg) /Mel 投与群、Mel 単独投与群にて、抜歯窩上皮が閉鎖しても組織学的に腐骨を認めたが、その面積は anti-R の濃度に依存して大きくなった。これらの結果より、顎骨壊死は anti-R の濃度に依存して、発症することが示唆された。さらに、Mel を併せて投与することで顎骨壊死が発症することから、免疫抑制状態と顎骨壊死との関連性が示唆された。

また、anti-R/Mel 投与群の胸腺組織標本では、胸腺の萎縮に伴う胸腺髄質上皮（以下、mTEC）面積の減少と、mTEC に発現している autoimmune regulator (AIRE) の欠失が認められた。AIRE

は未熟な胸腺髄質細胞の RANK ならびに CD40 を介し発現することから、anti-R の投与により AIRE の発現が減弱されたものと推測された。加えて、anti-R/Mel 投与群にて mTEC の TUNEL 陽性細胞が有意に減少していたことから、mTEC における不要 T 細胞のアポトーシスの機能に異常が生じている可能性が推測された。

加えて、anti-R/Mel 投与群の末梢血中で CD4⁺CD8⁺T 細胞数が増加していた。これは胸腺におけるネガティブセレクションに異常をきたし、CD4⁺CD8⁺T 細胞が末梢血へ入ったのではないかと推測された。また、anti-R/Mel 投与群では CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺T 細胞 (Treg) が減少した。Treg は末梢で自己反応性リンパ球の活動を抑制する機能を有し、末梢性の免疫寛容を担っているが、胸腺髄質における Treg 産生に異常をきたした可能性が示唆された。

以上より抗 RANKL 中和抗体によって発症する顎骨壊死は、胸腺の機能障害に起因する免疫応答の不均衡が関与しているものと推測された。

引き続き論文内容及び関連事項について、以下の項目を中心に質疑応答がなされた。

- 1) 破骨細胞分化活性における RANK-RANKL シグナル系について。
- 2) メルファランを投与した理由について。
- 3) 顎骨壊死の判断基準について。
- 4) TRAP 染色で認められた破骨細胞の形状について。また、破骨細胞に対してビスフォスフォネート製剤との作用の違いについて。
- 5) 顎骨壊死と免疫抑制を関連付けた根拠について。
- 6) 抗 RANKL 抗体/MEL 投与群にて制御性 T 細胞が減少している理由について。
- 7) 過剰な免疫反応と顎骨壊死発症を関連付けた根拠について。
- 8) 顎骨壊死が発症したものであっても明らかな感染所見を認めなかったことについて。
- 9) 過剰な免疫反応と顎骨壊死発症を証明するための追加実験について。

以上の質問に対して申請者から適切かつ明確な回答が得られた。審査担当者との質疑応答を通じて、申請者が本研究ならびに関連分野に対する理解が十分なされており、幅広い知識を有し、本研究のさらなる発展が期待された。

以上のことから、審査委員会は全員、本研究が学位論文に十分に値し、申請者が歯学博士の学位を授与される資格を有するものと認めた。