HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	BRONJ様マウスに対するヒト脱落乳歯歯髄幹細胞の無血清培養上清を用いた治療効果の検討［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	泉山, 大介
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第13871号
Issue Date	2020-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/78637
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Daisuke_Izumiyama_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

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　泉　山　大　介

学　位　論　文　題　名
BRONJ 様マウスに対するヒト脱落乳歯歯髄幹細胞の
無血清培養上清を用いた治療効果の検討

キーワード（５つ）BRONJ，顎骨壊死，ヒト脱落乳歯歯髄幹細胞，γδT 細胞，Treg 細胞

ビスフォスフォネート（Bisphosphonate：BP）製剤は，骨粗鬆症および癌の骨転移に伴う骨関連事象の予防などに広く使用されている骨吸収抑制薬であるが，その重大な副作用のひとつとして，BP関連顎骨壊死（Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw：BRONJ）が問題視されている．BRONJが報告された当初は保存的療法が第1選択であったが，最近では外科的療法が推奨傾向にある．しかし，これらの報告は十分なエビデンスに基づいたものではない．

本研究では第 3 世代 BP 製剤であるゾレドロン酸水和物(Zoledronic Acid Hydrate:ZOL)と抗悪性腫瘍薬であるメルファラン（Melphalan：MEL）を併用投与することにより BRONJ 様マウスを作製し，SHED の無血清培養上清（SHED-Conditioned Medium：SHED-CM）による治療効果について検討した．生後 8 週齢の C57BL/6J 雌マウスを，生理食塩水を投与した VC 群，ZOL・MEL を併用投与した BRONJ 様マウス ZM 群，ZOL・MEL に加え SHED-CM を併用投与した治療・予防検討マウス ZMS 群に分類した．すべての薬剤を 2 週にわたり週 2 回の頻度で腹腔内投与し，薬剤投与開始 3 週後に左側上顎第一臼歯の抜歯を行い，薬剤投与開始 5 週後に安楽死させ，各種解析を行った．

ZM 群では 5 匹中 2 匹で顎骨露出を認めたが，VC 群および ZMS 群では全てのマウスにおいて抜歯窩は口腔粘膜上皮での閉鎖を認めた．μCT および組織学的観察では，VC 群の抜歯窩は新生骨で満たされていたが，ZM 群では新生骨を認めず，ZMS 群では VC 群ほどではないが抜歯窩内に新生骨の添加を認めた．また，組織学的に VC 群では骨壊死を認めず，ZM 群では 5 匹中 5 匹全てに骨壊死を認め，ZMS 群では 10 匹中 8 匹に骨壊死を認めたものの残りの 2 匹には骨壊死を認めなかった．さらに，顎骨壊死面積を切片上で計測したところ，ZMS 群では ZM 群の約 1/3 に縮小していた．末梢血，脾臓および腹腔内の滲出細胞浮遊液のフローサイトメトリー分析にて，末梢血での γδT 細胞（γδT）は，ZM 群では増加しており，ZMS 群では VC 群より多いものの ZM 群より減少していた．脾臓での抑制性 T 細胞（Treg）および腹腔内の滲出細胞浮遊液での M2 マクロファージは，ZM 群では減少しており，ZMS 群では VC 群より少ないものの増加していた．

ZM 群では典型的な BRONJ の病理所見が確認されたが，ZOL 単独投与群あるいは MEL 単独投与群では，BRONJ 様症状は認められないことより，BRONJ 様症状は単に抜歯後の治癒不全ではなく MEL による薬理作用が付加要因として強く関与している可能性が示唆された．MEL は強い骨髄機能抑制作用を有しており，CD3 陽性細胞数が減少していたが，唯一細胞傷害性を示す γδT の割合が増加していた．これは BP 製剤が γδT の増殖と活性化を促すためと考えられる．また，過剰な免疫反応を抑制し，免疫応答の恒常性維持の役割を果たしている Treg が減少しており，γδT と Treg の不均衡が BRONJ 様症状を引き起こしたものと考えられた．

SHED の分泌液中には多くの生理活性物質が含まれており，極めて高い組織修復能や免疫調整能を有していることが知られている．SHED-CM の投与を行った ZMS 群では，BRONJ 症状が改善傾向を示した．SHED-CM が治療効果を示した理由として，SHED-CM を投与すると M2 マクロファージが増加し，産生されるサイトカインが増加，その結果 Treg が増加し，Treg と γδT の均衡が改善したためと考えられる．

以上より，SHED-CM の投与は BRONJ に対して有効な治療・予防法となることが示唆された.