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_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

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　泉　山　大　介

審査担当者
主査　教授　飯村　忠浩
副査　教授　網塚　憲生
副査　教授　樋田　京子
副査　准教授　吉村　善隆

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

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．

骨吸収抑制作用を示すビスフォスフォネート（Bisphosphonate：BP）製剤使用患者に発症するBP関連顎骨壊死（BP-related osteonecrosis of the jaw：BRONJ）は，進行性で難治性の疾患である．しかし，発症機序も含めBRONJの病態生理はいまだ不明な点が多く，そのため，BRONJの治療法について統一した見解は存在していない．

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）を併用投与し，BRONJ様マウスを作製，ヒト脱落乳歯歯髄幹細胞無血清培養上清（Stem cells from human exfoliated deciduous teeth-Conditioned Medium：SHED-CM）による治療効果を検討した．生後8週齢のC57BL/6J雌マウスを，生理食塩水を投与した群（Vehicle Control：VC群），ZOL・MELを併用投与したBRONJ様マウスZM群，ZOL・MEL・SHED-CMを併用投与したZMS群に分類した．すべての薬剤を2週にわたり週2回腹腔内投与し，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，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閉鎖した．μCT・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．

ZOLあるいはMEL単独投与群では，BRONJ様症状を認めないことより，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する事が示唆された．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-CM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．

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) 幹細胞の定義について
2) SHEDの種類について
3) SHEDの継代・変性について
4) 対照群について
5) BRONJ様症状の定義について
6) BRONJでの放線菌の感染について
7) BRONJ病理組織における破骨細胞の形態学的特徴について
8) M2マクロファージの表面抗原について
9) M2マクロファージの腫瘍への影響について

以上の質問に対して申請者からは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して十分理解し，幅広い知識を有していると考えられ，本研究のさらなる発展，進展が期待された．

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値し，申請者が博士(歯学)の学位を授与される資格を有するものと認めた．