



Title	薬剤関連顎骨壊死の発症における骨吸収抑制薬の休薬効果についてマウスを用いた検討〔論文内容及び審査の要旨〕
Author(s)	八幡, 大悟
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第13879号
Issue Date	2020-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/78647
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Daigo_Yahata_abstract.pdf, 論文内容の要旨



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 八 幡 大 悟

学 位 論 文 題 名

薬剤関連顎骨壊死の発症における骨吸収抑制薬の休薬効果についてマウスを用いた検討

キーワード（5つ） MRONJ, 顎骨壊死, 休薬, $\gamma\delta$ T 細胞, Treg 細胞,

骨粗鬆症をはじめ、骨パジェット病、癌の骨転移、多発性骨髄腫、骨形成不全症などの骨疾患に広く用いられているビスフォスフォネート（Bisphosphonate：BP）製剤を使用している患者に特異的に発症する顎骨壊死（Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw：BRONJ）は、2003年に Marx によって報告された難治性の疾患である。さらに、BP 製剤とは全く違う薬理機序で作用するヒト型モノクローナル抗体製剤であるデノスマブなどの分子標的治療薬の投与を受けている症例においても ONJ が発生することが報告されるようになり、薬剤関連顎骨壊死（Medication-related ONJ：MRONJ）の名称を用いることが提唱されるに至っている。現在、MRONJ に対する予防策と対応策は、少しずつ明らかになりつつあるが、いまだに統一した見解は確立していない。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）を併用投与することにより BRONJ 様マウスを作製し、動物実験において休薬の是非について検討を行った。

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 を併用投与した非休薬群, ZOL・MEL を併用投与した後に休薬期間を設けて抜歯した休薬群に分類した。すべての薬剤は週 2 回の頻度で 2 週にわたり腹腔内に投与した。VC 群および非休薬群には薬剤投与終了の 1 週間後、休薬検討群には最終投与から 1 か月後に抜歯を行った。抜歯から 2 週間後にすべてのマウスを安楽死させ、各種解析を行った。

VC 群では 5 匹中すべてのマウスにおいて、抜歯窩は口腔粘膜上皮で閉鎖されていた。一方、非休薬群では、5 匹中 3 匹のマウスで、抜歯窩が口腔粘膜上皮で閉鎖されていたが、5 匹中 2 匹 (40%) のマウスにおいて抜歯窩は閉鎖されず顎骨露出が認められた。休薬群においては 8 匹すべてのマウスにおいて、口腔粘膜上皮での抜歯窩の閉鎖を認めた。μCT および組織学的観察において、VC 群の抜歯窩は新生骨で満たされ、治癒が良好である事が確認された。一方、非休薬群では抜歯窩の残存を認め、新生骨の添加を認めなかった。また、休薬群では VC 群に比べて新生骨の添加が少なく、治癒遅延が生じているものの、非休薬群に比べて治癒経過は良好であった。また、切片上で 5 個以上隣接して骨小腔内の骨細胞が喪失している部位を顎骨壊死部と判定したところ、VC 群では骨壊死を認めず、非休薬群および休薬群ではすべてのマウスに骨壊死を認めた。しかし、連続切片で最大の骨壊死範囲を認めるものを最大顎骨壊死面積とし計測したところ、休薬群では非休薬群の約 1/2 程度に縮小していた。

末梢血、脾臓細胞のフローサイトメトリー分析を行ったところ、末梢血での $\gamma\delta$ T 細胞数は、VC 群と比較し非休薬群では増加しており、休薬群では VC 群より多いものの非休薬群より減少していた。脾臓細胞での抑制性 T 細胞 (Treg 細胞) は、VC 群と比較し非休薬群では減少しており、休薬群では VC 群より少ないものの増加していた。

本研究は動物実験ではあるが、BP 製剤の休薬の有効性を示すものであり、ヒトにおいても休薬によって発症する MRONJ 症状が緩和される可能性は否定出来ない。MRONJ の発症機序については、いまだに不明であり、様々な仮説が挙げられている。本研究で MRONJ を発症しているマウスを解析したところ、 $\gamma\delta$ T 細胞の比率が有意に高くなっていた。さらに、脾臓における Treg 細胞数が有意に減少していた。本実験において MRONJ 様症状が発現した事象は、MEL の骨髄抑制によって Treg 細胞が減少し、さらに ZOL によって $\gamma\delta$ T 細胞が活性化したことの双方の作用が強く関わっているものと推測される。MRONJ 発症の仮説から、休薬群において MRONJ 様症状が軽減した理由として、休薬により ZOL と MEL の薬理的作用が緩和したためと推測される。本研究の結果から、骨吸収抑制薬の休薬は、MRONJ 様症状の軽減に一定の効果があることが示唆された。