

指 導 教 授 氏 名	指 導 役 割
飯田 征二 印	研究統括、指導
印	
印	

## 学 位 論 文 要 旨

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科

専攻分野 学分野	顎口腔再建外科	身分 大学院生	氏名 中辻 和樹
論 文 題 名：骨治癒過程におけるビスフォスフォネート系製剤によるTリンパ球への影響の検討			
論文内容の要旨（2000字程度）			
<p><b>【緒言】</b></p> <p>ビスフォスフォネート製剤（BP）は骨粗鬆症の治療の第一選択薬であり、乳癌や前立腺癌の骨転移、変形性骨炎、その他骨吸収性病態に対する治療薬として広く使用されている。2003年、Marxらにより、BP内服の副作用として抜歯後の顎骨壊死（Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw:BRONJ）が報告された。それ以来、BRONJに関して様々な研究が行われているが、未だ発生機序が不明である。しかし、これらの研究により、BRONJ発生には骨代謝回転異常、血管新生抑、創傷治癒遅延、口腔内細菌の関与が示唆されている。また、近年、BPは破骨細胞だけではなく様々な細胞にも影響を与えることが明らかとなっている。一方、BP投与時の急性期反応の出現に際し、末梢血中のT細胞の一種である<math>\gamma\delta</math>T細胞が関与するとの報告があり、骨治癒過程においては、<math>\gamma\delta</math>T細胞が骨芽細胞の成長に関与していることが明らかとなり、骨粗鬆症では、閉経に伴う末梢血や骨髄中のTリンパ球の減少が示されている。このことから、BP投与が、免疫系に何らかの影響を及ぼしていることが考えられる。</p> <p>本研究では、骨治癒過程におけるBPのTリンパ球分画への影響を明らかにすることを目的とし、野生型マウスを用いて、ゾレドロネート投与後に大腿骨を削合し、骨髄、末梢血、胸腺、脾臓におけるTリンパ球分画への影響、さらにリンパ球分画に影響する関連因子として、血清中サイトカインの濃度の変化を検討した。</p> <p><b>【対象および方法】</b></p> <p>実験動物には12週齢C57BL/6J雌性Wildマウスを使用し、controlとして生理食塩水（200<math>\mu</math>l/body/day,3days/week）を腹腔内投与したcontrol群とゾレドロネート（200<math>\mu</math>g/kg/day,3days/week）を投与したzol群とし、各群ともに12週間薬剤投与した。薬剤投与開始4週後に右側大腿骨近位骨端下部に、直径1.4mmのラウンドバーを用いてドリリングを行った。ドリリング直後、2週後、4週後に血清生化学的解析のため、アニマルランセットを用いて、顎骨後方より穿刺し採血を行った。12週間の薬剤投与終了後、三種混合麻酔による全身麻酔を行い、後大静脈より血液を採取し、脱血後に大腿骨、胸腺、脾臓を採取した。大腿骨はH-E染色、抗CD3、抗Th-Pok、抗RUNX免疫組織化学染色を行い、組織学的観察を行った。末梢血血液細胞、胸腺細胞、脾臓細胞はCD45、CD3e、CD4、CD8a、TCR<math>\gamma/\delta</math>でラベルし、フローサイトメトリー解析を行った。</p>			

論文内容の要旨（2000字程度）

## 【結果】

### 1. 大腿骨の組織学的観察

H-E染色による組織学的観察の結果、control群と比べてzol群では海綿骨の骨梁の増加を認め、皮質骨の肥厚を認めた。各免疫組織化学染色における結果は、Control群と比べてZol群ではCD3陽性細胞数は増加傾向を示した。CD4陽性細胞の転写因子であるTh-Pokは増加傾向を示し、CD8陽性細胞の転写因子であるRUNXは有意な減少を認めた。

### 2. フローサイトメトリー解析

胸腺細胞では、control群と比較してzol群はCD4SP細胞、CD8SP細胞、DN細胞、 $\gamma\delta$ T細胞で増加傾向を示し、DP細胞で有意な減少を認めた。脾臓細胞では、control群と比較してzol群では、CD4SP細胞、DN細胞、 $\gamma\delta$ T細胞で増加傾向を示し、CD8SP細胞、DP細胞で有意な減少を認めた。末梢血において、control群と比較してzol群はCD4シングルポジティブ（SP）細胞で増加傾向を示した。CD8SP細胞、CD4CD8ダブルネガティブ（DN）細胞では有意に減少し、 $\gamma\delta$ T細胞では減少傾向を示した。末梢血においては、いずれの群もCD4CD8ダブルポジティブ（DP）細胞は測定されなかった。

### 3. 血清生化学的検討

IL-1 $\beta$ はcontrol群と比較してzol群の方がいずれの場合も減少傾向にあり、ドリリング2週後は有意な減少を認めた。IL-10とIL-17は、ドリリング直後はzol群の方が増加傾向を示したが、ドリリング2週後、4週後はzol群の方が減少傾向を示した。TNF- $\alpha$ はドリリング直後、ドリリング2週後はzol群の方が減少傾向を示したが、ドリリング4週後はzol群の方が増加傾向を示した。

## 【考察】

本研究結果から、BP投与により胸腺でのT細胞の分化は促進されるが、末梢血や脾臓におけるTリンパ分画の動態とは一致しないことが明らかとなった。さらに、BP投与によって生じた血清中のサイトカインの変化は破骨細胞、骨芽細胞ともに抑制する方向に働いていることから、骨代謝サイクルに異常をきたしている可能性があることが示唆された。BP投与によるTリンパ球動態の変化が正常な免疫恒常性の維持を困難にさせ、また血清サイトカインの変化によって、骨代謝サイクルに異常をきたしている可能性が考えられ、骨への感染防御を困難にしている可能性が示唆された。このことはBRONJの病因や発生機序の解明の一助となる可能性があり、免疫系の改善がBRONJ予防につながる可能性が示唆された。