

課題番号 51

薬剤関連顎骨壊死モデルマウスにおける リンパ球系細胞の免疫応答

[1] 組織

代表者：武田 裕利
(東北大学大学院歯学系研究科)
対応者：小笠原 康悦
(東北大学加齢医学研究所)
分担者：なし

研究費：物件費 20 万

[2] 研究経過

薬剤関連顎骨壊死 (Medication Related Osteonecrosis of the Jaw: MRONJ) は骨粗鬆症や悪性腫瘍の骨転移の治療に用いられる骨吸収抑制薬の副作用として知られている。薬剤関連顎骨壊死は2003年に世界で初めて報告されてから現在まで広く知れ渡ることとなった。しかしながら、薬剤関連顎骨壊死の発症機序が未だ不明であり、薬剤関連顎骨壊死に対する根本的な予防や治療は確立されておらず難治性疾患として実際の臨床現場では治療に苦慮していることが現状である。しかしながら、高齢化が進む中で薬剤関連顎骨壊死の患者は増加傾向にあり、薬剤関連顎骨壊死発症機序の解明は急務を要する。そこで申請者は薬剤関連顎骨壊死におけるリンパ球系細胞の免疫学的応答に着目し、各種リンパ球系細胞 (T 細胞、B 細胞、NKT 細胞、NK 細胞) の活性化状況ならびに骨代謝細胞との相互作用を明らかにすることを目的とした。

以下、研究活動状況の概要を示す。

本年度は、コロナ渦も収束しており、打ち合わせは、1か月に1度程度、対面で行うことができた。また、実験は、受け入れ教官の所属する生体防御学分野でも行い、共同研究体制は予定通り行うことができた。しかしながら、実験を行う上で絶対的な時間が不足してしまっており、研究の進捗状況は当初計画どおりという訳にはいかなかった。

本研究計画の立案についての仮説を模式図として図1に示す。

薬剤関連顎骨壊死は、骨吸収抑制薬の投与により引き起こされる難治疾患である。骨吸収抑制薬と細菌感染によっておこる可能性が示唆されており、これには、破骨細胞と免疫細胞がかかわっているとされている。

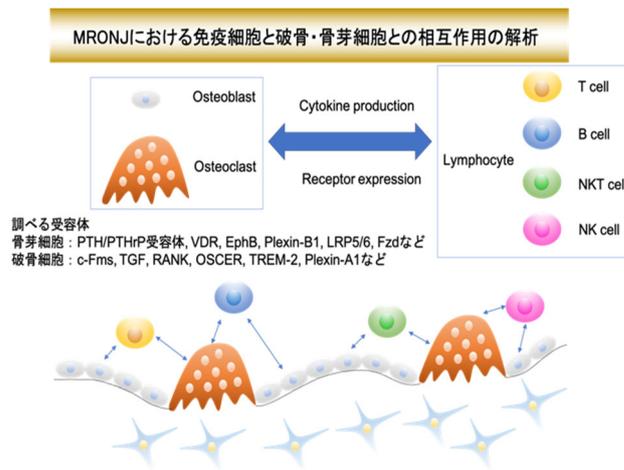


図1: 骨代謝細胞と免疫細胞の相互関係

そこで、我々は、*in vitro* の細胞培養系で、破骨細胞と免疫細胞の共存下で、破骨細胞や免疫細胞が産生するサイトカインの解析および、破骨細胞上、骨芽細胞上に発現している受容体解析を中心に研究を進めていくことにした。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

まず第1に、C57BL/6 マウスから大腿骨や脛骨から骨髄を単離した。赤血球を除く処理を行った後、骨髄細胞を *in vitro* 培養細胞系に移して、RANKL と M-CSF を加えた培地で培養することによって、破骨細胞に分化誘導した。薬剤関連顎骨壊死は、zoledronate などの骨吸収抑制薬と感染によっておこるとされている。そこで、*in vitro* でその状況を再現するために、分化誘導した破骨細胞に対し、Zoledronate と LPS を培養液中に加える処理を行った。Zoledronate は1から10 μ M まで濃度を変えて、その影響を観察した。その結果、Zoledronate 5 μ M 以上の濃度において、破骨細胞に薬剤関連顎骨壊死と同等のアポトーシスが観察された。

第2に、Zoledronate 存在下で、破骨細胞と免疫細胞の共培養を行う予定で研究を進めてきた。しかしながら、破骨細胞の準備が想定よりも時間がかかってしまい、Zoledronate の濃度を変えて培養することには至らなかった。

研究は、Zoledronate 存在下で、破骨細胞と免疫細胞を *in vitro* 培養して、免疫細胞それぞれのサブセット、例えば、CD4T 細胞、CD8T 細胞、NK 細胞、NKT 細胞などの挙動をフローサイトメトリーを用いて解析し、培養液中に産生されたサイトカインを ELISA 法で解析することを予定していた。

(3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究は、学内研究者との共同研究であるが、これまでも増して交流が活性化し、科学研究費補助金の獲得に向けて共同で行う、薬剤関連顎骨壊死解析プロジェクトに発展した。また、本共同研究で明らかになった Zoledronate による破骨細胞のアポトーシスの誘導という成果は、薬剤関連顎骨壊死にかかわる重要な所見であり、この発見を端緒として新しい研究展開が可能となり、今後の発展が期待される。

[4] 成果資料

学会発表

- (1) Selection and treatment outcomes of surgery versus non-surgical therapy of medication related osteonecrosis of the jaw: a retrospective study.
Yuri Takeda, Shinnosuke Nogami, Tai Kimura, Shinki Koyama, Shun Sato, Yuka Iwamae, Kazuhiro Imoto, Yoshio Otake, Hiromitsu Morishima, Yushi Ezoe, Hikari Suzuki, Kensuke Yamauchi. The 36th Annual Congress on Oral and Maxillofacial Surgery, 2024/3/9,10 (台湾・台中)
- (2) The Predictors of Prognosis Following Surgical Treatment for Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw: Retrospective Study
Yuri Takeda, Kazuhiro Imoto, Kenya Tomitsuka, Tai Kimura, Shun Sato, Yoshio Otake, Hikari Suzuki, Hiromitsu Morishima, Hitoshi Miyashita, Tsuyoshi Sugiura, Kensuke Yamauchi. 2023 Scientific Annual Meeting of ADEAP CA+inD International Symposium 2023 (2023/1/28-29)