九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

ラットビスフォスフォネート関連顎骨壊死様モデルにおける幹細胞培養上清による治療効果の検討

緒方，謙一

https://hdl.handle.net/2324/1500612

出版情報：九州大学，2014，博士（歯学），課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（2）

（様式３）

氏　　名　：緒方　謙一

論 文 名　：ラットビスフォスフォネート関連顎骨壊死様モデルにおける
幹細胞培養上清による治療効果の検討

区　　分　：甲

論　文　内　容　の　要　旨

口腔領域にビスフォスフォネート関連顎骨壊死(BRONJ)が起こることが報告されて以降様々な治療法が検討されているが、未だ有効な治療法がないのが現状である。近年、骨髄由来間葉系幹細胞(MSCs)の静脈内投与による治療が効果をあげたという報告もある。その治療効果は MSCs が分泌する液性因子によるパラクライン効果が主体であると考えられている。そこでわれわれは様々なサイトカインを含む幹細胞培養上清を用いその治療効果を検討した。ラット骨髄由来間葉系幹細胞（rMSCs）およびラット破骨細胞（rOSCs）にゾレドロン酸(Zol）とヒト MSCs の培養上清（MSC-CM）を作用させ TUNEL 染色・ウエスタンブロット法にて抗アポトーシス作用、細胞生存性を検討した。さらに Real-time RT-PCR 法にて骨形成関連遺伝子および血管新生関連遺伝子の発現を評価した。7 週齢雄の Wistar/ST ラットに Zol （35 μg/kg/週） とデキサメタゾン （1 mg/kg/日） を 2 週間皮下注射後、上顎臼歯部を抜歯して、顎骨壊死を起こしているものだけをラット BRONJ 様モデルとした。その後、未治療群、無血清 Dulbecco’s modified Eagle’s medium ［DMEM (-)］ 投与群、MSC-CM 投与群に分け（それぞれ n = 8）、それぞれ 1ml 静脈内投与し、さらに 2 週間後に μCT と組織学的評価を行った。また蛍光標識した MSC-CM の体内動態を in vivo イメージング装置により追跡し BRONJ 部位に MSC-CM が到達しているのを確認した。MSC-CM は rMSCs と rOSCs に対して抗アポトーシス作用があった。骨形成関連遺伝子、*VEGF*、*RANKL/Osteoprotegerin* の発現は Zol 投与群と比較して上昇していた。ラット BRONJ 様モデルにおいては未治療群および DMEM (-)投与群では未だ腐骨形成、細菌塊付着を認め、破骨細胞の減少を認めたが、MSC-CM 投与群では抜歯窩には新生骨ができており、骨露出なく治癒していた。また、蛍光免疫染色では CD31 陽性細胞数が増加していた。in vivo イメー

ジング装置で蛍光標識したMSC-CMの体内動態を検索した結果、静脈投与6時間から24時間後をピークにその後1週間後にはほぼ体内からは消失していることが分かった。以上より、MSC-CM投与によりrMSCs、rOSCsの抗アポトーシス作用および分化促進、血管新生の促進により組織治癒が得られた。以上よりMSC-CMの静脈内投与はBRONJの有用な治療となり得る可能性が示唆された。