



Title	ビスフォスフォネートの抜歯窩治癒に載する影響に関する研究
Author(s)	小林, 靖宜
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47583
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	こ ばやし やす よし 小 林 靖 宜
博士の専攻分野の名称	博 士 (歯 学)
学 位 記 番 号	第 2 1 0 5 2 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 19 年 3 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 歯学研究科統合機能口腔科学専攻
学 位 論 文 名	ビスフォスフォネートの抜歯窩治癒に対する影響に関する研究
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 米 田 俊 之 (副査) 教 授 矢 谷 博 文 助教授 小 野 高 裕 講 師 飯 田 征 二

論 文 内 容 の 要 旨

〈目的〉

ビスフォスフォネート (BP) は、破骨細胞の特異的阻害剤であり、骨吸収が亢進している骨疾患の治療に広く用いられている。化学構造的に BP には窒素を含むものと、含まないものがあるが、骨吸収阻害効果は窒素を含む BP の方が活性の強いことが示されている。近年、骨転移や高カルシウム血症の治療のために窒素含有 BP の長期間投与を受けているがん患者が、主に抜歯処置を受けた場合に、顎骨に骨壊死 (Osteonecrosis of the Jaw、ONJ) をきたすケースが数多く報告されている。今のところ、BP 投与との因果関係は不明であるが、ONJ の予後はきわめて不良であるため、そのメカニズムの解明と、適切な対処法の確立が望まれている。抜歯後の創傷治癒過程には活発な骨リモデリングと血管新生が見られる。一方 BP は骨吸収を抑制し、また最近の研究から血管新生を阻害することが示されている。したがって、BP は抜歯窩の創傷治癒に対して影響を及ぼし、ONJ 誘発の遠因となっている可能性が考えられる。また、ONJ が顎骨に特異的に見られることから、口腔内細菌の関与が想像され、BP は口腔内細菌の動態に対しても何らかの影響を及ぼすと推測される。

本研究においては、ONJ 発症のメカニズム解明を目的として、マウス抜歯モデルを作成し、抜歯窩創傷治癒に対する BP の効果について検討した。

〈実験方法〉

1. BP

窒素含有 BP として、骨吸収抑制活性が最も強いゾレドロン酸 (ZOL)、ならびにリセドロネート (RIS)、窒素非含有 BP としてエチドロネート (ETI) を用いた。実験では、抜歯 7 日前より抜歯後 5-7 日目まで、マウスに連日 ZOL、あるいは ETI (マウス一匹あたり一日 5 μg、腹腔内) を投与した。

2. マウス抜歯モデル

麻酔下でピンセットを用いて雄性 6 週齢 C57BL/6 マウスの上顎右側第一臼歯を脱臼、抜去した。5-7 日後にマウスを屠殺し、上顎骨を切離、採得、通法により組織切片を作製した。

3. 抜歯窩内の新生骨形成と血管新生

HE 染色と組織形態計測法により新生骨形成、血管内皮細胞のマーカーである CD31 抗体を用いた免疫染色により血管新生を検討した。

4. 軟組織での血管新生抑制

背部皮下法により検討した。メンブレンフィルターを用いてディフュージョンチャンバーを作製し、チャンバー内に血管内皮細胞増殖因子 VEGF と BP を封入し、雌性 7 週齢の BALB/c マウスの背側皮下に移植した。5 日後、チャンバー表面と接するマウス背側、皮膚、裏側の組織を取り出し、実体顕微鏡下で新生血管数を算定した。

5. 培養血管内皮細胞の増殖、遊走

マウス骨髄血管内皮細胞株 (BMEC) およびヒト血管内皮細胞様細胞株 (ECV-304) を用い、WST 法により細胞増殖を評価した。また、I 型コラーゲン内での 3 次元培養による BMEC の増殖能も検討した。

さらにヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) を用いて管腔ネットワーク形成を指標にして、その遊走能を検討した。

6. 口腔内細菌の増殖

健康人の口腔内より採取したブラークの細菌懸濁液を作製し、THY 寒天培地に播種、24 時間後に培地上のコロニー数を算定した。

〈結果〉

1. マウス抜歯窩治癒への BP の影響

組織学的検索により抜歯窩治癒過程の 5・7 日目では旺盛な新生骨の形成を認めた。ZOL は抜歯後 5・7 日目に見られる新生骨形成を有意に減少させた。また ZOL 投与群では CD31 陽性の血管数が減少していた。一方 ETI は血管新生、ならびに抜歯窩治癒に対して明らかな抑制効果を示さなかった。

2. 軟組織での血管新生に対する BP の効果

ZOL は VEGF により促進された血管新生を有意に抑制した。

3. 血管内皮細胞の増殖に対する BP の作用

ZOL は有意に ECV304 および BMEC の細胞増殖を抑制し、また 3 次元培養においても BMEC の細胞増殖を抑制した。

4. 血管内皮細胞の遊走に対する BP の効果

ZOL は HUVEC の管腔ネットワーク形成を抑制した。また同じ濃度の RIS は中等度、ETI はほとんど管腔形成抑制効果を示さなかった。

5. 口腔内細菌に対する BP の効果

ZOL は 10 および 1 mM の濃度で、口腔内細菌の増殖を促進した。また ETI は影響を示さなかった。

〈結論・考察〉

本研究の結果より、ZOL は新骨形成および血管新生を抑制することにより抜歯窩の治癒を遅延させることが示された。さらに、高濃度の ZOL は口腔内常在細菌の増殖を促進させることも明らかとなった。一方、窒素非含有 BP である ETI は、何ら影響を示さなかった。このような ZOL の作用は ONJ 発症の誘因になると推察される。また、化学構造の異なる BP が、血管新生や抜歯創の治癒に対して違った作用を示すことも、ONJ の発症メカニズムを解析する上で何らかの示唆を与えるものと考えられる。しかしながら本研究においては ZOL 投与により、抜歯後の ONJ 発症は見られなかったことから、未知の要因の関与が推測される。

論文審査の結果の要旨

本研究においては、ビスフォスフォネート投与に合併する顎骨壊死の原因の解明を目的として、抜歯後の創傷治癒に対するビスフォスフォネートの影響を検討した。

その結果、最も頻繁に用いられ、かつ最も強力な骨吸収抑制活性を有するビスフォスフォネートであるゾレドロン酸が、抜歯窩における新生骨形成および血管新生を抑制することにより抜歯窩の治癒を遅延させること、ならびに口腔内細菌の増殖を促進することが見出され、ビスフォスフォネートが顎骨壊死の発症に密接に関与することが示唆された。よって本研究は博士（歯学）の学位授与に値すると認められる。