

学位審査結果報告書

学位申請者氏名 金子 純也

学位論文題目 Zoledronic acid exacerbates inflammation through M1 macrophage polarization

審査委員 (主査) 竹内 弘



(副査) 松尾 拓



(副査) 古株 彰一郎



学位審査結果の要旨

ビスホスホネート (BP) 系薬剤をはじめとする骨吸収抑制薬は、骨転移を有するがん患者および骨粗鬆症患者の治療に広く用いられているが、難治性の顎骨壊死発症の原因となりうることから薬剤関連顎骨壊死/骨吸収抑制薬関連顎骨壊死として問題となっている。その発症機序は十分解明されていないが、動物を用いた実験系で BP とリポ多糖 (LPS) で顎骨以外にも骨壊死が誘導されることから、BP による薬剤関連顎骨壊死の発症には炎症の存在が関与することが考えられる。マクロファージは炎症促進性 M1 マクロファージと、炎症の収束に関与する抗炎症性 M2 マクロファージの大きく 2 つに分類されるが、グラム陰性菌細胞壁外膜構成成分である LPS は M1 マクロファージへの分化を促し、細菌に対する防御反応、免疫応答を誘導するとともに、IL-1 β などの炎症性サイトカインを産生させる。一方、M2 マクロファージは IL-4 などによって分化が誘導され、IL-1ra や IL-10 などを産生し、組織修復や抗炎症機能の活性に関与することが報告されている。

申請者の金子純也氏は、BP が LPS が誘導する M1 マクロファージの分化に影響し、薬剤関連顎骨壊死/顎骨骨髓炎の発症にも関与していると考え、本研究において Zoledronic acid (Zol) が M1/M2 マクロファージ分化に与える影響を *in vitro* の実験系で検討した。

マクロファージ分化誘導の実験には、Phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) で前処理した THP-1 細胞を用い、LPS または IL-4 刺激することによって、それぞれ、M1 または M2 マクロファージへの分化を誘導した。各種サイトカインの mRNA 発現および分泌量はそれぞれ定量的リアルタイム PCR 法および enzyme-linked immunosorbent assay 法により解析した。

Zol は LPS 処理で誘導される M1 マクロファージ分化マーカーの一つ IL-1 β の発現と分泌をともに増強し、IL-1 受容体に拮抗する IL-1ra の発現を低下させた。このとき、細胞の ATP 刺激によって誘導されるインフラマソームの構成成分 NLRP3 の発現上昇と、IL-1 β の成熟・分泌に必要な酵素 caspase-1 の活性上昇がいずれもコントロールに比して亢進していた。一方、Zol は IL-4 刺激で誘導される M2 マクロファージのマーカーである CD206 や IL-10 の発現には影響を及ぼさなかった。これらの結果は、Zol は M2 マクロファージへの分化には影響せず、NLRP3 インフラマソームの活性化の増強を介し、LPS が誘導する炎症促進性 M1 マクロファージへの分化を促すことを示しており、薬剤関連顎骨壊死の予防には炎症の制御が重要であることを示唆している。

本研究内容について申請者の金子氏に対し、公開審査会において主査と 2 名の副査による試問を行い、使用した細胞の性質や、各実験方法、結果の解釈および当該分野における意義と今後の課題等について概ね適切な回答を得た。本研究の成果は、BP による薬剤関連顎骨壊死に LPS によって惹起される炎症促進に関わる発症機序を理解し、より有効な治療法の開発に寄与することが期待できることから、審査委員会では本論文を学位論文として価値あるものと判断した。