

論文審査結果報告書

論文提出者氏名：坂口 修

学位論文題目：LIPOPOLYSACCHARIDE AGGRAVATES

BISPHOSPHONATE- INDUCED OSTEONECROSIS IN RATS

審査委員（主査）教授 吉岡 泉 印

（副査）教授 中島啓介 印

（副査）教授 松尾 拓 印

論文審査結果の要旨

ビスフォスフォネート関連顎骨壊死（以下 BRONJ）の発症原因については、不明な点が多い。申請者が関与した過去の研究において、ビスフォスフォネート（以下 BP）を投与したラットで、歯周病原細菌による刺激によって顎骨だけでなく、他の種類の骨にも骨壊死が発生することが報告されている。その研究では歯周病原細菌として *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*（以下 *A.a*）を凍結乾燥したものをを用いたが、その主な抗原性は Lipopolysaccharide（以下 LPS）と考えられる。そこで本研究では LPS を用い、歯周病原細菌による刺激を行った場合と同様に骨壊死が生じるのかを検討した。併せて、LPS を中和するカチオン性ペプチド抗菌薬である Polymyxin B (PMB) を用い、LPS を不活化した状態との比較を行った。

あらかじめ BP が投与されたラットの下顎骨と大腿骨の骨髄内に *A.a* LPS を填入したものを LPS 群とし、LPS と PMB の混合物を投与したものを LPS+PMB 群、生食を投与したものを Saline 群とした。4 週間後、下顎骨と大腿骨を採取し、病理組織標本を作製した。LPS 群と LPS+PMB 群では、非脱灰の凍結標本を作製し、alkaline phosphatase（以下 ALP）/ tartrate-resistant acid phosphatase（以下 TRAP）染色を行い、骨代謝の状態を観察した。

その結果、下顎骨と大腿骨において、LPS 群で広範囲な骨壊死が観察され、他の 2 群では小さく限局した領域に骨壊死が観察された。また下顎骨と大腿骨ともに、LPS+PMB 群の骨壊死範囲は Saline 群と同程度であった。ALP / TRAP 酵素染色の結果では、LPS 群は LPS+PMB 群と比較して、ALP 陽性細胞が少なかった。

この結果から、グラム陰性菌の主な抗原物質である LPS 刺激が、BRONJ の発生および増悪因子である可能性が示唆された。また、LPS を中和することで骨壊死の促進が抑制されたことにより、BRONJ に対する PMB の予防もしくは治療への応用の可能性について示唆された。また、ALP/TRAP 染色の結果より、LPS により骨芽細胞の分化が阻害された可能性が示唆された。

申請者の坂口 修氏に対して、主査と 2 名の副査によって主に以下のような試問を行った。本動物モデルでは時間の経過と共に骨壊死は拡大していくか。認められた骨壊死は骨穿孔の刺激とリポ多糖による生物学的刺激の結果とは考えられないか。ALP/TRAP 染色の結果から LPS が骨芽細胞分化を抑制したと推察しているが、LPS の影響が少ない外仮骨部での所見はどうだったか。これらの試問内容について申請者から概ね適切な回答が得られ、当該分野における意義についても適切な回答が得たことから、審査委員会では本研究が学位論文として価値あるものと判断した。

