

論文審査の結果の要旨

氏名：武 田 ひとみ

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：プロポフォールが RAW264.7 細胞における破骨細胞様細胞の形成に及ぼす影響

審査委員：(主査) 教授 鈴木 直 人

(副査) 教授 岡 俊 一

教授 今 村 佳 樹

教授 川 戸 貴 行

プロポフォールは、鎮静、催眠、健忘あるいは制吐作用を有する静脈麻酔薬であり、生体内での蓄積性が低く、早い作用発現と短い半減期などの利点を有する。プロポフォールは、顎骨への侵襲を伴う口腔外科処置など様々な手術時の鎮静や全身麻酔に頻用されており、骨リモデリングに関与する骨芽細胞と破骨細胞もまた、プロポフォールの曝露を受けると考えられる。破骨細胞は、骨吸収で中心的な役割を担う多核の巨細胞であり、破骨細胞前駆細胞が互いに融合して破骨細胞へと分化する。骨芽細胞やリンパ球が産生する receptor activator of NF-kappaB (RANK) ligand (RANKL) が破骨細胞前駆細胞に発現する RANK に結合すると、破骨細胞の分化が強く誘導され、破骨細胞性骨吸収は促進する。dendritic cell-specific transmembrane protein (DC-STAMP) と osteoclast stimulatory transmembrane protein (OC-STAMP) は、破骨細胞前駆細胞から破骨細胞への分化の過程で発現が増加し、破骨細胞前駆細胞の融合に関与する。また、破骨細胞と破骨細胞前駆細胞は、RANK と相反する機能を有する受容体、leucine-rich repeat-containing G-protein-coupled receptor 4 (LGR4) を発現する。さらに、破骨細胞の細胞上の eph-receptor interacting protein (Ephrin) B2 が骨芽細胞の EphB4 受容体と結合すると、そのシグナルは破骨細胞側にも伝達されて分化が抑制される。

プロポフォールが破骨細胞の分化に及ぼす影響を調べた先行研究では、培養期間を通じて細胞をプロポフォールで刺激しており、一時的なプロポフォールによる曝露の影響は検討されていない。そこで本研究では、RANKL 誘導性の破骨細胞分化の過程におけるプロポフォールによる一時的あるいは継続的な刺激が、破骨細胞の分化に及ぼす影響について検討した。

本研究では、マウス単球/マクロファージ由来の RAW264.7 細胞を破骨細胞前駆細胞として用いた。RAW264.7 細胞を、10%ウシ胎児血清と 1%ペニシリン/ストレプトマイシンを含有した培地で、37°C、5%CO₂ の条件で一晩、培養した。その後、50 ng/ml の可溶性 RANKL と 0 (コントロール)、10、20 または 30 μM のプロポフォールを含む培地に交換し、5 時間、1.5 日間または 4 日間培養して RAW264.7 細胞を刺激した。培養期間は 4 日間とし、5 時間と 1.5 日間プロポフォールで刺激した後は、プロポフォールを含まない RANKL 添加培地で培養を継続した。培養 4 日目に破骨細胞様細胞の形成は、tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) 染色で確認した。DC-STAMP、OC-STAMP、LGR4、RANK および EphrinB2 の遺伝子発現は real-time PCR 法で調べた。

その結果、以下の結論を得ている。

1. DC-STAMP、OC-STAMP、RANKL の発現は、プロポフォールによる 1.5 日間と 4 日間の刺激で顕著に減少し、LGR4 の発現は 4 日間の刺激で顕著に増加した。
2. プロポフォールによる 1.5 日間の刺激で多核を有する TRAP 陽性の破骨細胞様細胞の数は、4 日間の刺激と同程度、減少した。
3. EphrinB2 の発現は、プロポフォールによるいずれの刺激期間でも顕著に増加した。

本研究は、プロポフォール刺激が数日に及ぶと、その後の破骨細胞の分化が抑制されることを明らかにするとともに、プロポフォールが EphrinB2/EphB4 経路にも影響する可能性を示しており、歯科麻酔学ならびに関連歯科臨床の分野に寄与するところが大きいものと考えられた。

よって本論文は、博士（歯学）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上

令和 4 年 3 月 1 0 日