

## Effects of Zoledronic Acid on Human Gingival Fibroblasts and Human Umbilical Vein Endothelial Cells

神原 優美

### 論文内容の要旨

ビスフォスフォネート製剤は重大な有害事象として、Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw (以下 MRONJ) を引き起こし、破骨細胞への影響に加えて、骨露出の要因として軟組織の治癒不全が指摘されている。本研究は、ゾレドロン酸ナトリウム (以下 ZOL) が口腔軟組織の創傷治癒に関連するヒト歯肉線維芽細胞 (Human gingival fibroblasts : 以下 HGFs) とヒト臍帯静脈内皮細胞 (Human Umbilical Vein Endothelial Cells : 以下 HUVECs) に及ぼす影響を検討した。

HGFs および HUVECs を用い、各細胞培地単独群および ZOL (50  $\mu$ M) 添加群に分類した。細胞増殖は 0.4% Trypan-Blue 溶液を用いて 2, 4, 6, 8 日後の各細胞数を計測した。そして、Wound Healing Assay にて、各実験群の細胞遊走率を測定し、Apoptosis Assay により、各実験群のアポトーシス率を確認した。また、各細胞の各実験群において培養上清を回収し、培地内の血管内皮増殖因子 (以下 VEGF) 、線維芽細胞増殖因子 (以下 FGF-2) の産生量を ELISA 法で測定した。さらに、VEGF-A について Real time RT-PCR 法で mRNA 発現量の比較検討を行った。結果を以下に示す。

1. 両細胞ともに、ZOL 添加により細胞の増殖能が抑制され、アポトーシスの促進を認めた。
2. Wound Healing Assay による検討では、両細胞ともに、ZOL 添加により遊走能が抑制された。
3. ELISA 法による検討では、HGFs は ZOL 添加群において有意な VEGF 産生量の増加を認めた。一方、HUVECs では、ZOL 添加群において VEGF 産生量が有意な減少を認めた。FGF-2 産生量は両細胞において ZOL 添加により有意な変化は認めなかった。
4. Real time RT-PCR 法では、HGFs および HUVECs において、VEGF-A-mRNA 発現量は ZOL 添加後に有意な増加を認めた。

上記の結果より、両細胞ともに、ZOL 添加により細胞の増殖能、遊走能が抑制され、アポトーシスの促進を認めた。ZOL 添加により VEGF 産生量は HGFs では経時的に増加したが、HUVECs では減少した。一方、VEGF-A-mRNA 発現量は両細胞ともに、増加していた。ZOL に対する細胞毎の異なった VEGF の分子機序が示唆され、興味深い結果と考えられた。

### 論文審査の結果の要旨

本論文は、口腔軟組織の創傷治癒に関連する HGFs および HUVECs に ZOL を作用させ、その影響を検討したものである。その結果、ZOL の投与により、両細胞ともに増殖能、遊走能の抑制やアポトーシスの促進を認め、HUVECs の VEGF 産生調節機構の異常を明らかにした。本研究は MRONJ の発症メカニズムや予防法の一助となり得る知見である。以上は歯学に寄与するところが大きく、博士 (歯学) の学位に値するものと審査する。

主査 大越 章吾

副査 仲村健二郎

副査 小椋 一朗

### 最終試験の結果の要旨

神原優美に対する最終試験は、主査 大越章吾教授、副査 仲村健二郎教授、副査 小椋一朗教授によって、主論文に関する事項を中心として口頭試問が行われ、優秀な成績をもって合格した。