






学位論文審査の結果及び最終試験の結果の要旨

学位申請者氏名	小松 佐保		
学位論文名	ヒト破骨細胞の生存延命・骨吸収機能に対する抗 Siglec-15 抗体の効果 (The effect of anti-Siglec-15 antibody on osteoclast survival and osteoclastic bone resorption)		
論文審査委員	主査：	松本歯科大学 教授	各務 秀明 
	副査：	松本歯科大学 教授	中村浩彰 
	副査：	松本歯科大学 教授	大須賀直人 
	副査：		
	副査：		
最終試験	実施年月日	2019 年 2 月 20 日	
	試験方法	<input type="checkbox"/> 口答 ・ <input checked="" type="checkbox"/> 筆答	
学位論文の要旨			
<p>Immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif は、T 細胞や B 細胞の受容体と会合する細胞膜アダプター分子の細胞内ドメインに共通してみられるモチーフとして発見された。破骨細胞では DNAX-activating protein 12 (DAP12) と Fc receptor common γ subunit の発現が高く、これらのダブル欠損マウスは骨吸収不全を呈する大理石病を惹起する。最近 DAP12 と会合する免疫グロブリンスーパーファミリー分子として、シアル酸受容体タンパク質である sialic acid-binding immunoglobulin-like lectin 15 (Siglec-15) が同定された。Siglec-15 は破骨細胞の分化に伴って誘導され、Siglec-15 遺伝子欠損マウスは骨吸収が抑制され骨量が増加するが、破骨細胞数はほとんど減少しない。また、骨形成に対しては、骨形態計測の結果から、骨芽細胞数や骨形成速度などの骨形成パラメーターは野生型マウスと比べ、ほとんど差が無かったと報告されている。本研究では、ヒト末梢血由来の破骨細胞の分化と延命に対する抗 Siglec-15 抗体の効果について検討した。健康人ボランティアの末梢血から単核球分画を抽出し、CD14 抗体陽性細胞を単離した。CD14 陽性単核細胞を RANKL と M-CSF で誘導し、破骨細胞を形成した。培養 7 日目で多核破骨細胞は、RANKL と M-CSF の非存在下で死滅傾向を示すが、抗 Siglec-15 抗体を添加することにより延命を評価した。抗 Siglec-15 抗体により、濃度依存的および経時的に破骨細胞の延命は阻害された。抗 Siglec-15 抗体によるヒト破骨細胞の生存延命阻害作用は、オステオプロテゲリン、抗 RANKL 抗体またはアレンドロネート処理ではほとんど認められなかった。さらに単離した CD14 陽性細胞を RANKL と M-CSF の存在下において象牙切片上で培養し、破骨細胞が形成された培養 7 日目にコントロール IgG、抗 Siglec-15 抗体、もしくはアレンドロネートを添加し、破骨細胞の生存と象牙質の吸収窩の形成を解析した。その結果、抗 Siglec-15 抗体を添加した群は象牙切片上の TRAP 陽性細胞数が減少し、ヘマトキシリン染色による吸収窩の形成も阻害された。また、アレンドロネートを添加した群は、アポトーシスに至っていると考えられる TRAP 陽性多核陽性細胞を認め、ヘマトキシリン染色における吸収窩は強く阻害された。一方 RANKL と M-CSF によるヒト破骨細胞の分化過程においては、抗 Siglec-15 抗体は形成された TRAP 陽性多核細胞数を減少させなかった。</p> <p>以上の結果から、抗 Siglec-15 抗体はヒト末梢血由来の破骨細胞の分化誘導過程では阻害効果は示さなかったが、多核破骨細胞の延命と骨吸収能には阻害活性を示した。</p>			

(様式第 13 号)

学位論文審査結果の要旨

本研究では、DNAX-activating protein 12(DAP12)と会合する免疫グロブリンスーパーファミリー分子である Sialic acid-binding immunoglobulin-like lectin 15 (Siglec-15)に対する抗体を用いて、ヒト末梢血由来の破骨細胞の分化と延命に対する影響を検討したものである。抗 Siglec-15 抗体は、従来の骨粗鬆症治療薬とは異なる機序で破骨細胞に作用することから、副作用の軽減などが期待されるが、その作用の詳細は明らかではなかった。本研究の結果から、抗 Siglec-15 抗体は濃度依存のおよび経時的に破骨細胞の延命を阻害することが示された。一方、RANKL と M-CSF による破骨細胞の分化過程には影響を与えなかったことから、破骨細胞の成熟段階によって異なる作用を示すことが明らかとなった。

本研究の成果は、抗 Siglec-15 抗体が従来の骨粗鬆症治療薬とは異なった作用点を持つのみでなく、その影響を受ける細胞にも差があることを示した点で重要であり、本論文が博士(歯学)の学位論文に値すると判断した。

最終試験結果の要旨

学位論文の内容に関する質疑に加え、以下のような項目を中心に口頭による試験を行った。

1. 抗 Siglec-15 抗体が製剤化された場合に想定される投与経路について。
2. 破骨細胞に対する影響は 100ng/mL 以下と以上で大きく異なるメカニズムについて。
3. 既存の薬剤であるビスフォスネート、デノスマブ等との違いについて。
4. 薬剤として投与された場合に考えられる副作用について。
5. 本研究の結果から想定される in vivo 実験における抗体の投与量について。

以上の質問に対して適切な解答が得られたことから、学位申請者は博士課程(歯学)の修了者として十分な知識と学力を有していると判断し、最終試験を合格と判定した。

判定結果

合格

不合格

備考

- 1 学位論文名が外国語で表示されている場合には、日本語訳を()を付して記入すること。
- 2 学位論文名が日本語で表示されている場合には、英語訳を()を付して記入すること。
- 3 論文審査委員名の前に、所属機関・職名を記入すること。