

令和 2 年 4 月 30 日現在

機関番号：27102

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K17236

研究課題名（和文）閉経後骨粗鬆症モデルラットを用いたMRONJ発症メカニズム解析と新規治療法の探索

研究課題名（英文）Analysis of MRONJ pathogenesis mechanism and search for new treatment method using postmenopausal osteoporosis model rat

研究代表者

田中 純平（Tanaka, Jumpei）

九州歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：90772913

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,600,000円

研究成果の概要（和文）：今回われわれの研究では、副甲状腺ホルモン製剤（テリパラチド：TPTD）が骨芽細胞の活動を促進し、それによって血清中のRANKLの発現が増加し、破骨細胞の活性化が促進され、その結果、骨粗鬆症治療薬であるビスフォスフォネートを起因とする顎骨壊死（Medication-related osteonecrosis of the jaws：MRONJ）の改善につながることを示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

超高齢社会を迎える日本で、骨粗鬆症患者も増加の一途を辿っている。治療薬であるBP製剤を服用する患者も増加しており、それに伴ってMRONJに苦しむ患者も増加している。MRONJに対する外科的治療の有効性は報告されているが、MRONJ患者の多くが高齢であることや外科的治療に伴うQOLの低下等の問題も多い。MRONJに対するTPTD治療の確立は急務である。本研究の結果は、MRONJに対するTPTD治療の有効性を示唆する結果であった。

研究成果の概要（英文）：In our study, we showed that thyroid hormone preparation (teriparatide;TPTD) promotes osteoblast activity, thereby increasing the expression of RANKL in serum, which in turn promoted the activation of osteoclasts and consequently led to improvement of Medication-related osteonecrosis of the jaws (MRONJ).

研究分野：MRONJ

キーワード：MRONJ テリパラチド

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

超高齢化社会を迎える日本で、骨粗鬆症患者は年々増加しており、骨粗鬆症治療薬であるビスフォスフォネート (Bisphosphonate: 以下 BP) を起因とする顎骨壊死 (Medication-related osteonecrosis of the jaws: 以下 MRONJ) の患者は増加している。

本邦ポジションペーパー2016 でステージングに沿った MRONJ 治療が示されている。近年、ステージ 2 以上の MRONJ に対して、外科的療法の方が保存的療法よりも治癒率が高いことを示す結果が集積され、外科的療法を推奨する傾向にあるが、MRONJ 患者の多くが高齢であるという背景もあり、高齢者 MRONJ 患者に対する積極的治療による口腔内機能の低下により、患者の食べるという QOL の低下や誤嚥性肺炎のリスクを高くなるという点も問題である。そのことから、ステージ 2 以上の高齢者患者には、外科療法適応は困難となることもあり、積極的な治療が行えない現状がある。外科療法による口腔機能悪化に伴い、食べるという QOL の低下や誤嚥性肺炎のリスクが上がることで、適切な治療法確立に至っていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、卵巣摘出による骨粗鬆症モデルラットに経口 BP を用いた MRONJ モデルを作成すること、またラットに BP を投与することによって骨壊死モデルを作製し、MRONJ 発症メカニズムの検証とテリパラチド (以下:TPTD) を用いた MRONJ に対する治療効果を評価することである。

3. 研究の方法

(1) 卵巣摘出した骨粗鬆症モデルラットに経口 BP を内服させ、骨壊死を確認

8 週齢雌ラットに卵巣摘出手術を行い、8 週の待機期間を設け、経口 BP であるアレンドロネート (ALN) を週一回全 4 週間、経口投与。その後、下顎骨ならびに大腿骨に対してドリリングを行い、歯周病原細菌より抽出した LPS 充填し、骨壊死を誘発させた。術後 4 週間経過観察後に安楽死させたうえで左右大腿骨、下顎骨を摘出し、HE 染色にて標本を作製し、下顎骨と大腿骨の骨壊死に対する組織学的観察を行った。

(2) MRONJ に対する TPTD の治癒効果の確認

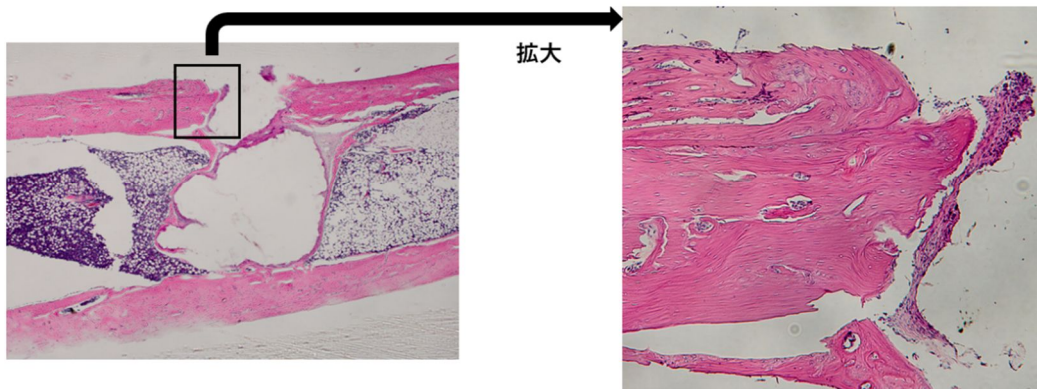
すべてのラットにビスホスホネート系薬剤の 1 つである Zoledronate (ZOL) を 4 週間皮下注射し、ZOL 投与後、下顎骨ならびに大腿骨に対してドリリングを行い、歯周病原細菌より抽出した LPS 充填し、骨壊死を誘発させた。その後、TPTD 群と生理食塩水群の 2 群に分けた。TPTD 群は TPTD30 µg/kg を週に 3 回、4 週の期間、皮下注射し、生理食塩水群は生理食塩水を TPTD 群と同じ期間、等量となるよう投与した。安楽死の 10 日前と 3 日前に石灰化標識剤の Calcein15 mg/kg を腹腔内投与した。安楽死を行い、下顎骨と大腿骨の骨壊死に対する組織学的観察を行った。

4. 研究成果

(1)

卵巣摘出を行い、骨粗鬆症を誘発させた閉経後骨粗鬆症モデルラットに対して経口 BP であるアレンドロネートを内服させ、骨に対してドリリングを行い、歯周病原細菌より抽出した LPS 充填することで骨壊死が生じることを確認した (図)。

図

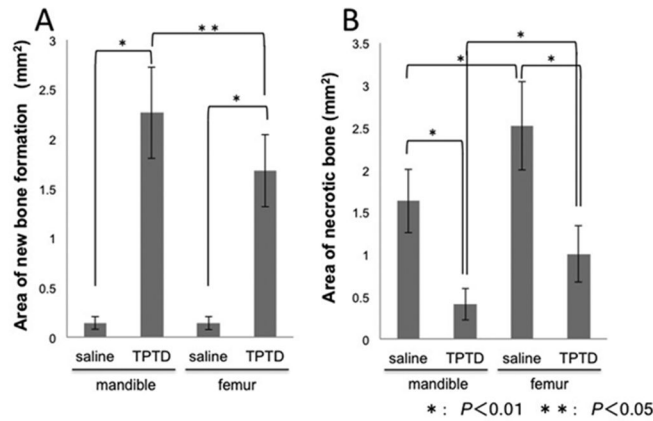


(2)

ヘマトキシリン染色にて下顎骨・大腿骨の骨新生と骨壊死面積を評価した。下顎骨・大腿骨ともに、TPTD 群は生理食塩水群に比べて有意に骨新生面積は大きく、骨壊死面積は小さかった(図1)。

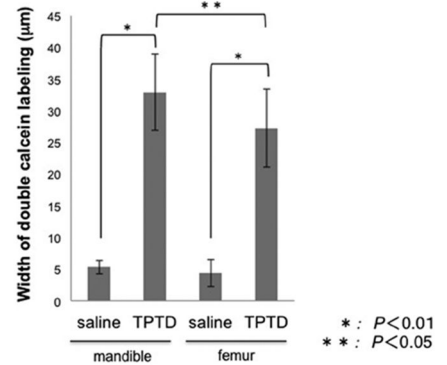
下顎骨・大腿骨ともに Calcein による二重標識幅は TPTD 群が生理食塩水群に比べて有意に広がった(図2)。

図1



Statistical analysis of hematoxylineosin staining of the mandible and femur, and measurement of new bone formation and necrotic bone area.

図2

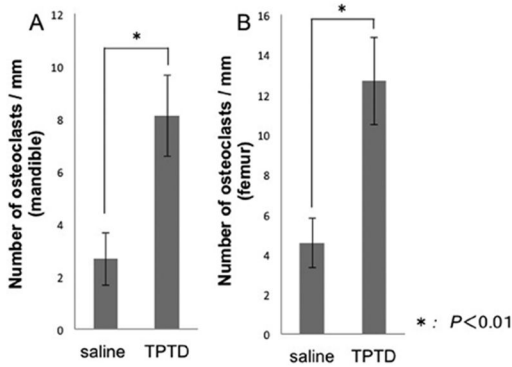


Statistical analysis of double calcein staining of the mandible and femur, and measurement of new bone formation.

Villanueva bone 染色にて壊死骨に付着する破骨細胞数を評価し、TPTD 群は生理食塩水群に比べて有意に破骨細胞数は増加していた(図3)。

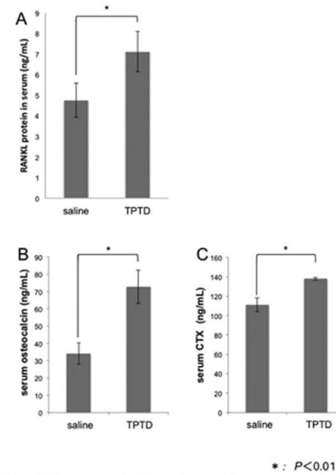
血清 RANKL は TPTD 群が生理食塩水群に比べて有意に増加していた。オステオカルシンと CTX は(TPTD 群が生理食塩水群に比べて有意に増加していた図4)。

図3



Statistical analysis of Villanueva bone staining of the mandible and femur, and quantification of osteoclasts attached to the necrotic bone surface. The number of osteoclasts attached to the necrotic bone surface was counted.

図4



RANKL protein level and bone marker (osteocalcin, CTX) levels detected by ELISA.

<引用文献>

H. Ikeda, D. Yoshiga, et.al. Evaluation of therapeutic effects of teriparatide in a rat model of zoledronic acid-induced bisphosphonate-related osteonecrosis. J Oral Maxillofac Surg Med Pathol.2019;31:333-341.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 H. Ikeda, D. Yoshiga, S. Kokabu, W. Ariyoshi, H. Tsurushima, O. Sakaguchi, J. Tanaka, J. Kaneko, M. Habu, M. Sasaguri, E. Jimi, T. Nishihara, I. Yoshioka, K. Tominaga	4. 巻 31
2. 論文標題 Evaluation of therapeutic effects of teriparatide in a rat model of zoledronic acid-induced bisphosphonate-related osteonecrosis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Medicine, and Pathology	6. 最初と最後の頁 333 - 341
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----