様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　６ 年　 ５ 月 １７ 日現在

機関番号：１４５０１
研究種目：若手研究
研究期間：2019～2023
課題番号：１９Ｋ１９２３０

研究課題名（和文）放射線性骨髄炎における新規治療法の開発

研究課題名（英文）Development of new treatment methods for radiation induced osteomyelitis

研究代表者
岩田　英治（IWATA, EIJI）

神戸大学・医学研究科・医学研究員

研究者番号：１０８３２９７５

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　3,200,000円

研究成果の概要（和文）：頭頸部癌放射線治療における深刻な合併症として放射線性顎骨骨髄炎がある。しかし治療ガイドラインは未だ存在せず、既存の治療法は合併症も多く、新規治療法の開発が望まれる。そこでその成因に着目し新規治療法開発を目指し、治療ターゲットを探索した。その結果、細胞レベルで口腔粘膜組織は高線量の放射線照射を受けることで低酸素状態が亢進し線維化をきたすことが成因として考えられた。進展症例の臨床的検討でも、感染の蓄積（線維化）が病変進行の重要な因子であることが明らかとなり、臨床検体を用いた検討においても線維化がその成因に深く関わっていること、そして筋線維芽細胞が重要な治療ターゲットとなりうることを突き止めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義
医療の発展にも関わらず、頭頸部癌患者数は年々増加の一途にある。約80%の頭頸部癌患者がその治療過程において放射線治療を受けると言われており、その合併症が放射線性顎骨骨髄炎である。本研究でその発症や進行には、線維化が深く関与していること、さらに線維化の主役である筋線維芽細胞が重要な治療ターゲットとなりうることを見いだした。筋線維芽細胞をターゲットとした研究は様々な分野で行われており、今後放射線性顎骨骨髄炎の新規治療法開発に向けた研究が進展する可能性が見いだされた。

研究成果の概要（英文）：Radiation-induced osteomyelitis is a serious complication of radiotherapy for head and neck cancer. However, treatment guidelines have been not established and existing treatments have many complications. The development of new treatments is desired. Therefore, we aimed to develop a new treatment method by focusing on its causes and searched for therapeutic targets. As a result, examination at the cellular level revealed that the oral mucosal tissue is exposed to high doses of radiation, which increases hypoxia and causes fibrosis. Examination of advanced cases revealed that accumulation of infection (i.e., fibrosis) is an important factor. Examination using clinical specimens also showed that fibrosis is involved in the etiology and identifying myofibroblasts as a potential therapeutic target.

研究分野：口腔外科学

キーワード：放射線性骨髄炎　低酸素状態　線維化

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１（共通）

１．研究開始当初の背景

頭頸部癌の放射線治療は、耳鼻咽喉科領域では上咽頭癌や中咽頭癌に、口腔外科領域では口腔癌術後追加治療として用いられる頻度が高い。この頭頸部癌放射線治療における最も深刻な合併症として放射線性顎骨骨髄炎/顎骨壊死（osteoradionecrosis of the jaw; ORN）がある。発症すると極めて難治性で、重篤な顎口腔機能障害や審美障害を余儀なくされる。その成因は、高線量の放射線照射により、照射範囲内の骨内血管が閉塞し、著しく低酸素状態となり、血流障害を起こすことで組織破壊をきたすと考えられている。しかし治療ガイドラインは未だ存在せず、既存の治療法は合併症も多く、新規治療法の開発が望まれている。

２．研究の目的

研究代表者はこれまで口腔癌の腫瘍内“低酸素環境”に着目し、炭酸ガス療法という新規治療法を開発し、その有用性を示してきた（Iwata E, et al. *Int J Oncol*. 2016）（Iwata E, et al. *Oncol Rep*. 2018）。その経験から、口腔癌を含めた頭頸部癌治療の合併症である放射線性顎骨骨髄炎/ORN においてもその病態・成因に着目して新規治療法の開発を目指し、多角的に治療ターゲットを探索することを目的とした。

３．研究の方法

（１）In vitro での検討

昨今の研究で心臓線維芽細胞が低酸素状態により筋線維芽細胞に形質転換することで組織の線維化が起こるとする報告がある（Sanjay M, et al. *Vasc Interv Radiol*. 2010）。そこで口腔粘膜においても同様の事象が起こり得るのか、口腔線維芽細胞に応用することで、口腔組織における低酸素状態と線維化の関連性を調査した。ヒト口腔線維芽細胞（HGF）を通常培養と低酸素培養を行い、酸素条件の違いによる線維化誘導因子の発現量をReal-time PCRで検討した。さらに照射線量の違いによる線維化誘導因子の発現量についてもReal-time PCRで検討した。

（２）重症下顎 ORN 症例の臨床的特徴の検討

下顎 ORN は重篤化すると病的骨折に至り、壮絶な癌治療を乗り越えた患者の社会復帰をさらに遅延させる。自施設で術後経過が調査可能であった 74 例の下顎 ORN 患者のうち 19 例（25.7%）が重篤化により病的骨折を生じていた。その多くが高侵襲な長時間手術を余儀なくされており、術後に皮弁壊死やプレート露出といった合併症を伴っていた。つまり、病的骨折に至る以前に治療介入し患者を救済すべく、新規治療法の開発が望まれる。そこで重篤化により病的骨折に至った成因を追究した。

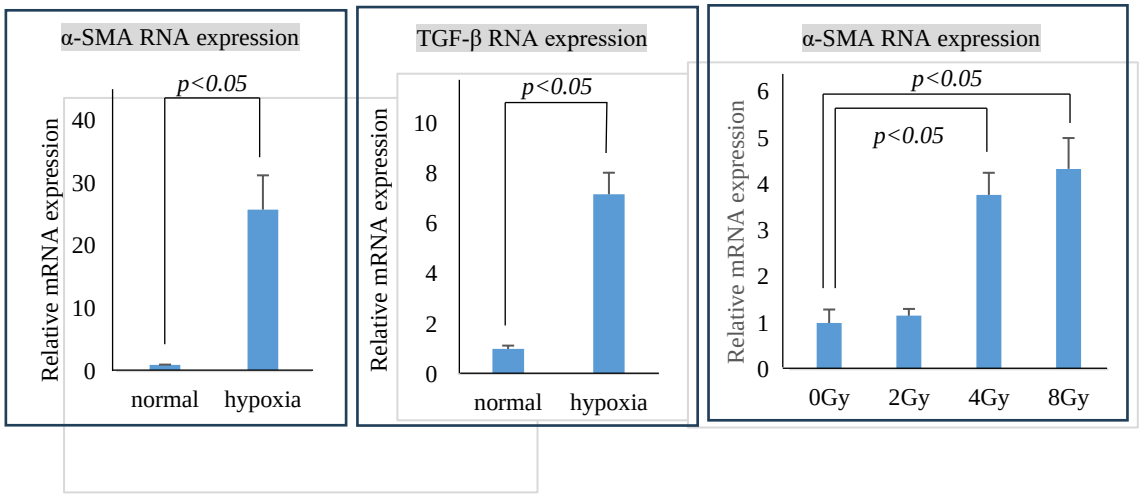
（３）重症下顎 ORN 症例の臨床検体の検討

臨床検体から得られる情報が治療に十分に活かされていないのが ORN 治療・研究の問題点と言える。今回下顎 ORN の特徴的な病理組織学的所見である「骨髄線維化」に着目した。そこで自施設で術後経過が調査可能であった、重症下顎 ORN に対して下顎骨の広範切除を施行した 15 例について部位による骨髄線維化程度、さらに線維化誘導因子の発現について評価を行った。

４．研究成果

（１）In vitro での検討

HGF は通常培養と比較して低酸素培養で、線維化誘導因子 α-SMA、TGF-β の有意な発現上昇を認めた。また照射線量の増大により線維化誘導因子 α-SMA の有意な発現上昇を認めた。以上から放射線性骨髄炎の成因として、口腔粘膜組織は高線量の放射線照射を受けることで低酸素状態が亢進し線維化につながる可能性が示唆された。



（２）重症下顎 ORN 症例の臨床的特徴の検討

単変量解析にて放射線治療前の初期評価（p=0.024）と骨折発生時（p=0.009）それぞれの予後不良歯の数が病的骨折と有意に関連していることが分かった。特に重度歯周炎（いわゆる P4）歯が多い、つまり重度の歯周状態がどちらのタイミングでもリスク因子であった。

多変量解析にて右の表のように、骨折発生時の予後不良歯が多いことが病的骨折の独立したリスク因子であることが分かった。以上から P4 歯が多い患者は ORN 発症だけでなく、感染の蓄積（線維化）により病的骨折を引き起こすリスクがあるという知見を得た。上記研究結果は査読付き英文雑誌である Scientific Reports に掲載された。

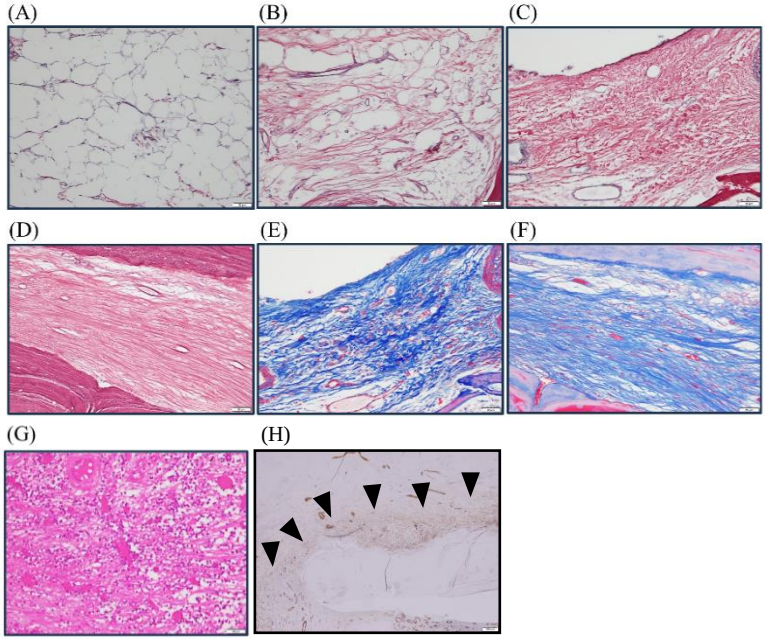
Variables	P value	Hazard ratio	95% CI
Age ≥ 70 years	0.092	0.314	0.082–1.207
Sex male	0.288	2.091	0.536–8.163
Oral and oropharynx cancer	0.784	1.204	0.319–4.547
Radiation dose ≥ 70 Gy	0.211	0.37	0.078–1.757
Non-IMRT	0.977	0.967	0.093–10.096
With resection of mandible	0.142	3.83	0.639–22.974
With neck dissection	0.279	0.412	0.083–2.054
Number of mandibular teeth with a poor prognosis at initial evaluation before RT ≥ 3.0	0.272	2.008	0.578–6.977
Occlusal support	0.919	1.074	0.272–4.238
Number of mandibular teeth with a poor prognosis when fracture occurred ≥ 3.0	0.042*	3.669	1.049–12.825
Ipsilateral to primary tumor	0.792	0.854	0.264–2.763
Proportion of antibiotic administration period in a follow-up duration ≥ 0.004	0.294	1.867	0.581–5.993

（３）重症下顎 ORN 症例の臨床検体の検討

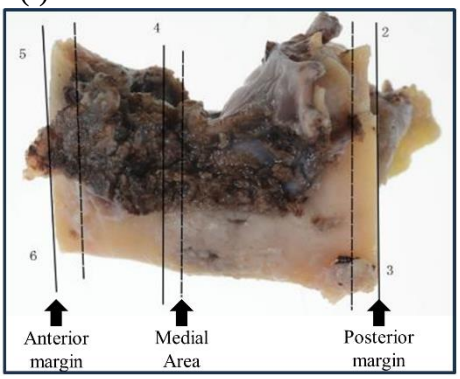
顎骨における骨髄線維化評価法は存在しないため、まずそこから取り掛かった。骨髄線維化評価法として WHO の骨髄線維化 Grade 分類（Arber DA, et al. *Blood*. 2016）が知られ血液疾患である骨髄線維症等の評価によく用いられる。ただし骨髄線維症と ORN の病態の違いを考慮し、同グレード分類（Grade 0~3）に「炎症」という Grade を加えた（下記表）。病変中央、両側切除断端（図 I）の薄切に特殊染色（マッソントリクローム（MT）染色、鍍銀染色）を行って検討した。病変中央においては全ての症例に高度線維化を示す膠原線維（主に Grade 3）を認め、ほぼ全ての症例（93.3%）に「炎症」を認めたが正常骨髄（Grade 0）は認めなかった。ほとんどの切除断端（83.3%）には膠原線維（主に Grade 2）を認めた。以上から顎骨の各部位の骨髄線維化の程度は、その部位の重症度を示しており、この Grade 分類がその評価に有用であることが示唆された。さ

らに骨髄線維化部分は α-SMA 免疫染色で筋線維芽細胞の増殖を認めた（図 H、矢印）。このことから、ORN の骨髄線維化の主役を筋線維芽細胞が担っていることを世界で初めて視覚的に明示した。以上から臨床検体においても筋線維芽細胞が ORN における重要な治療ターゲットとなりうることを突き止めた。

Grade 分類	
Grade 0	細網線維は散在性にあるが、交差像は見られない。正常骨髄に相当。 (A:鍍銀染色)
Grade 1	主として血管周囲に、細網線維は多くの交差像を伴い、粗いネットワークを形成。 (B:鍍銀染色)
Grade 2	細網線維が交差像を伴いびまん性かつ高密度に増生、限局性に膠原線維の束状増生および/または巣状の骨硬化所見。 (C:鍍銀染色, E:MT 染色)
Grade 3	細網線維が高度な交差像を伴いびまん性かつ高密度に増生、膠原線維の密な線維束形成を認め、通常骨硬化所見を伴う。 (D:鍍銀染色, F:MT 染色)
炎症 （新たな Grade）	炎症細胞の浸潤を伴う肉芽組織。 (G:HE 染色)



(I)



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 Ohori Hiroaki、Iwata Eiji、Takeda Daisuke、Kusumoto Junya、Hasegawa Takumi、Akashi Masaya	４．巻 13
２．論文標題 Risk factors for pathological fracture in patients with mandibular osteoradionecrosis	５．発行年 2023年
３．雑誌名 Scientific Reports	６．最初と最後の頁 5367
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-023-30735-4	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

７．科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕　計0件

８．本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関