

令和 5 年 4 月 26 日現在

機関番号：32653

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K18681

研究課題名（和文）細胞シートとバイオコンパチブルチタンプレートによる顎骨壊死の治療と再建法の開発

研究課題名（英文）Treatment and reconstruction for osteonecrosis of the jaw using cell sheet combined with titanium reconstruction plate

研究代表者

貝淵 信之（Kaibuchi, Nobuyuki）

東京女子医科大学・医学部・講師

研究者番号：50621330

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）：間葉系幹細胞シート(MSCシート)によるビスホスホネート関連顎骨壊死(BRONJ)の新規治療法を臨床研究に進めるためにトランスレーショナルリサーチとしてビーグル犬実験を計画した。ゾレドロン酸とデキサメタゾン投与し、歯肉を剥離、顎骨を切削することでBRONJビーグル犬モデルを作製可能であった。今後はこのモデルに歯根膜由来MSCシートを移植する実験を実施する。本治療法の適応拡大として、重症例に対するバイオコンパチブルなプレート再建の開発を行なった。ゾレドロン酸とデキサメタゾン投与したラットにMSCシートを併用したチタンプレート移植を行なったところ、対照群と比較して有意に炎症が抑えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

BRONJに対する顎骨を切除する手術は高確率に根治可能であるが、術後の摂食・嚥下障害、構音障害、顔面の形態異常などQOLの大きな喪失は避けられない。MSCシートによる治療は比較的低侵襲に治療を行える、手術に代わる治療法として期待できる。本研究ではこの治療法の臨床応用に向けてビーグル犬を用いたトランスレーショナルリサーチを計画した。また、BRONJの手術後の再建方法も現状のプレート再建では感染や再発のリスクがあり、原因薬剤や基礎疾患から自家骨移植は困難なことが多い。本研究で開発したMSCシートを用いた新規プレート再建法はこの問題を解決する画期的な再建法となりえる。

研究成果の概要（英文）：Beagle dog experiments were planned as translational research to advance a novel treatment for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ) using mesenchymal stromal cell sheets (MSC sheets) into clinical research. We were able to create a beagle dog model of BRONJ by administering zoledronic acid and dexamethasone, debridement of the gingiva, and shaving of the jaw bone. In the future, they will conduct experiments to implant periodontal ligament-derived MSC sheets into this model. As an extension of this treatment, we developed a biocompatible plate reconstruction for severe cases. When titanium plates with MSC sheets were implanted in rats treated with zoledronic acid and dexamethasone, inflammation was significantly suppressed compared to the control group.

研究分野：口腔外科学、再生医学

キーワード：ビスホスホネート BRONJ 顎骨壊死 MRONJ 間葉系幹細胞 細胞シート 再生医療等製品 デノスマ

1. 研究開始当初の背景

ビスホスホネート(BP)系薬剤は骨吸収抑制作用を有する薬剤であり、骨粗鬆症においては骨密度の上昇効果や骨折予防効果により多く使用されている。さらに癌領域において、骨転移や骨関連事象(SRE)の予防薬として有効性が証明され、多くの患者で投与されている。しかしながら、2003年にBP系薬剤関連顎骨壊死(Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: BRONJ)が初めて報告されたのち、世界中からの報告が相次いでおり歯科・口腔外科領域においては重大な問題となってきた。2015年に日本口腔外科学会が行った実態調査では本邦の患者数は4797名であった。学会などを中心に様々な提言がされているが、発症機序・予防法・処置法などは未だ明確ではない。多くの基礎研究や臨床研究から病因として、BPによる骨代謝の抑制、血管新生阻害、免疫機能障害、軟組織治癒の抑制に加えて口腔細菌の感染、顎骨への外科的侵襲などにより発症することが示唆されている(Ruggieroら J Oral Maxillofac Surg 2014)。

治療法に関しては、全体の82%を占めるステージ1、2では今のところ基本的に保存的治療が推奨されている。しかし、それでは治癒に至らず、病態が進行して難治化する症例が多く見られ、患者の生活面への長期にわたる支障は大きい。ステージ3まで進行した症例の根本的な治療は、現状では顎骨切除などの手術のみしかない。しかし、顎骨を大きく切除する手術であることから、摂食嚥下障害、構音障害、顔面の変形などの問題があり患者のQOLの大きな喪失は避けられない。そのため、いかにステージ3まで進行させずにステージ1、2の段階で治癒させるかが治療戦略として重要である。また、ステージ3の手術で広範な顎骨切除を行なった際、全身の骨へのBPの作用により自家骨による再建手術を行うことが困難な場合が多く、その場合、チタンプレートによる再建が行われている。しかし、チタンプレートによる再建は異物であることなどから感染を起こし、場合によっては顎骨壊死の再発を招く(Hayashidaら J Bone Miner Res 2017, Schöningら Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1998)。そのため、ステージ3の治療においては、感染を起こし再発することのない、生体に調和した新規再建法が望まれている。

2. 研究の目的

間葉系幹細胞(MSC)の創傷治癒促進作用、抗菌作用、抗炎症作用、血管新生促進作用、抗アポトーシス作用、骨代謝促進作用、免疫調整作用などの効果を期待し、BRONJに対するMSCの経静脈投与による治療の有効性を確認する動物実験がマウスで行われ、有効であることが報告された(Kikuriら J Bone Miner Res 2010)。しかし、経静脈投与では移植したMSCのほとんどが患部に届かないだけでなく、肺塞栓などにより死に至る可能や(Cyranoskiら Nature 2010)、がん患者ではがん細胞の増殖や転移を促す可能性も報告されている(Karnoubら Nature 2007)。我々の実験においても、静脈投与ではMSCが患部に生着していないことを確認した(Kaibuchiら Acta Biomater 2016)。我々はこれらの問題点を克服しうる細胞移植法として「細胞シート工学」の応用が本疾患の治療に有効であると考えた。これまでに我々は、ラットやビーグル犬のBRONJモデルに対してMSCシートの局所投与による移植実験を行い、本治療法の有効性を確認してきた(Kaibuchiら Acta Biomater 2016, Kaibuchiら Regne Ther 2018)。本研究では、他治療のために構築された細胞バンクの歯根膜由来MSCsを用いてBRONJに対する本治療法の臨床研究を行うために、トランスレーショナルリサーチとして、実際に使用する歯根膜由来MSCを用いてMSCシートの作製及びビーグル犬モデルへの移植実験を行うことを目的とした。

また、これまでにやってきた本治療法の検討は、BRONJのステージ1、2を対象の中心に行ってきた。しかし、現状はステージ3まで重症化する症例も多く見られる。ステージ3の治療は前述したように広範な顎骨切除が必要となるが、再建手術が困難な場合が多く、場合によっては再発を招く。本研究ではMSCシートをチタンプレート周囲に移植することにより、生体と調和したバイオコンパティブルなチタンプレートによる再建を検討することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究ののちに実施を目指している臨床研究では、他治療のために構築された細胞バンクの歯根膜由来MSCsを用いる予定である。本研究では、実際に使用するこの細胞バンクの細胞を用いてヒト歯根膜由来MSCシートを作製し、本治療法にとって最も条件の良いMSCシートの作製方法をELISAによるタンパク質分泌や物性、組織学的な解析を行なうことで検討した。また、臨床研究のためのトランスレーショナルリサーチとしてビーグル犬モデルへの移植実験を行なった。ゾレドロン酸とデキサメタゾンを投与したビーグル犬の顎骨の歯肉を剥離し顎骨を切削することでビーグル犬モデルを作製した。

MSCシートによる新規プレート再建方法の検討を行うため、ラットを用いた移植実験を行なった。ゾレドロン酸とデキサメタゾンを投与したラットにチタンプレートの埋入とともにMSCシートを同時に移植し、待機期間を置いた後に組織を採取し、組織学的にチタンプレート周囲組織を検討した。

4. 研究成果

ヒト歯根膜由来 MSC シート作製方法の検討

培養液や培養濃度などの培養条件を検討し、ヒト歯根膜由来 MSC を細胞シート状に作製する検討を行なった。アスコルビン酸を添加した MEM で 1 週間培養することで厚さ 30-50 μm の細胞シートが作製可能であった。また、細胞上清のタンパク質濃度を測定したところ、VEGF や HGF の分泌が確認された。

ビーグル犬 BRONJ モデルの作製

ゾレドロン酸とデキサメタゾン投与したビーグル犬の歯肉を剥離、顎骨を切削し、待機期間を置いたところ、顎骨に壊死が発症した。今後このモデルへのヒト歯根膜 MSC シートを移植する実験を実施する。

MSC シートを用いたバイオコンパチブルプレート再建法の検討

ゾレドロン酸とデキサメタゾン投与したラットにチタンプレートの埋入とともに MSC シートを同時に移植したところ、細胞シートを移植していない対照群と比較して有意に骨壊死範囲が縮小された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4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 0件）

1. 著者名 貝淵信之・岩田隆紀・古賀陽子・岡本俊宏	4. 巻 39(4)
2. 論文標題 間葉系幹細胞シートを用いた骨吸収抑制剤関連顎骨壊死の新規治療法	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 バイオマテリアル	6. 最初と最後の頁 2-7
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 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 N Kaibuchi, T Iwata, T Okamoto, Y Kawase-Koga, M Yamato	4. 巻 41
2. 論文標題 Cell therapy for medication-related osteonecrosis of the jaw: update on treatment strategies	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 European Cells & Materials	6. 最初と最後の頁 31-39
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.22203/eCM.v041a03	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 貝淵信之	4. 巻 47
2. 論文標題 間葉系幹細胞シートによる顎骨壊死の新規治療法	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Medical Science Digest	6. 最初と最後の頁 101-103
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 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 N Kaibuchi, T Iwata, Y Kawase-Koga, M Yamato, T Okamoto	4. 巻 10
2. 論文標題 Novel Cell Therapy Using Mesenchymal Stromal Cell Sheets for Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Bioengineering and Biotechnology	6. 最初と最後の頁 902349
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fbioe.2022.902349	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 西巻和広、貝淵信之、古賀陽子、岡本俊宏
2. 発表標題 チタン材料を留置したラット顎骨に対するビスホスホネートおよびデキサメタゾンの影響
3. 学会等名 第66回日本口腔外科学会総会・学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 貝淵信之、西巻和広、赤城裕一、藤井俊治、古賀陽子、岡本俊宏
2. 発表標題 ラットを用いた骨吸収抑制薬関連顎骨壊死に対するチタンプレート顎骨再建モデルの開発
3. 学会等名 第25回公益社団法人日本顎顔面インプラント学会総会・学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 貝淵信之、島崎士、赤城裕一、賀川千瑛、富永浩平、岡本俊宏
2. 発表標題 薬剤関連顎骨壊死と口腔インプラント
3. 学会等名 第50回日本口腔インプラント学会記念学術大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西巻和広、貝淵信之、鷺尾薫、大和雅之
2. 発表標題 チタン材料留置による薬剤性顎骨壊死モデルに対する間葉系間質細胞シート治療の検討
3. 学会等名 第22回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2023年

〔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
---------	---------