

令和 6 年 6 月 15 日現在

機関番号：34519

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K17126

研究課題名（和文）炎症惹起顎骨壊死モデルを用いた抗G-CSF中和抗体によるARONJ新規治療の探索

研究課題名（英文）Exploration of novel treatment of ARONJ with anti-G-CSF antibody using inflammation-induced osteonecrosis of the jaw

研究代表者

上田 美帆 (Ueta, Miho)

兵庫医科大学・医学部・助教

研究者番号：10774391

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：マウスにゾレドロン酸を投与し、上顎第一臼歯部に絹糸を巻き付け、周囲歯周組織にLPSを投与し、炎症惹起型骨吸収抑制薬関連顎骨壊死モデルを作製した。その後、上顎第一臼歯部周囲歯肉にanti-G-CSF antibodyを局所投与（anti-G-CSF投与群）し、歯肉粘膜、顎骨を含めた組織を採取して病理組織学的に評価を行った。

TRAP染色では、対象群およびanti-G-CSF投与群ともに有意なTRAP染色陽性破骨細胞は認められなかった。HE染色では、第一大臼歯部の歯槽骨吸収を確認した。明らかな骨露出は認めなかったが、anti-G-CSF投与群は対象群と比較してempty lacunaeの減少を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

骨粗鬆症や骨転移を有する悪性腫瘍の患者の治療に広く用いられている骨吸収抑制薬の重

大な副作用の一つに骨吸収抑制薬関連顎骨壊死があり、患者数は増加傾向にある。炎症の制御が困難になると、腫脹、疼痛、外歯癩などで患者の口腔に関するQOLは著しく低下するため、軟組織を含めた炎症の局所コントロールは重要である。骨吸収抑制薬関連顎骨壊死という軟組織を含めた炎症性疾患は、活動亢進した好中球による好中球介在性疾患とみなされるのではないかという問いを明らかにし、活性化した好中球を制御できれば、患者の口腔に関するQOL維持に繋がると考えられる。

研究成果の概要（英文）：We created a model in which mice were injected with zoledronic acid, silk ligature was tied around the maxillary first molar, and LPS was administered to the surrounding periodontal tissues to induce inflammation. Subsequently, anti-G-CSF antibody was topically administered to the gingiva surrounding the maxillary first molar (the anti-G-CSF group), and tissues including gingival mucosa and jawbone were collected and evaluated histopathologically. TRAP staining showed no significant TRAP-positive osteoclasts in the control group or the anti-G-CSF group, and HE staining showed alveolar bone resorption in the first molar. Although there was no obvious bone exposure, the anti-G-CSF group showed a decrease in empty lacunae compared to the control group.

研究分野：口腔外科

キーワード：抗G-CSF中和抗体 骨髄炎

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

骨吸収抑制薬の重大な副作用である骨吸収抑制薬関連顎骨壊死は発症メカニズム等不明な点が多い。免疫系の活性化に伴う骨破壊は、関節リウマチ、歯周病や骨髄炎などの感染症に頻繁に観察される。好中球は炎症を制御する一方、過剰に活性化されると様々な炎症性サイトカインを放出し、逆に炎症の増悪や組織の損傷を引き起こす。好中球の増殖・分化を促進する顆粒球コロニー刺激因子 (Granulocyte colony-stimulating factor: G-CSF) は炎症性疾患の主要なメディエーターであることが明らかにされている。

本研究では、絹糸結紮による歯周炎発症マウスにビスホスホネートを投与することで炎症惹起型骨吸収抑制薬関連顎骨壊死モデルを作製し、抗 G-CSF 中和抗体を投与し、その影響を検討することにより骨吸収抑制薬関連顎骨壊死発症のメカニズムを解明するために本研究を計画した。

2. 研究の目的

(1) 炎症惹起型骨吸収抑制薬関連顎骨壊死モデルの評価

マウスの臼歯に絹糸を結紮し LPS およびビスホスホネートを投与することで、新たな炎症惹起型骨吸収抑制薬関連顎骨壊死モデルを作製し、病理組織学的に評価する。

(2) 炎症惹起型骨吸収抑制薬関連顎骨壊死モデルに対する anti-G-CSF antibody 投与の影響

炎症惹起顎骨壊死モデルに anti-G-CSF antibody を局所投与してその効果を明らかにする。

3. 研究の方法

8 週齢の C57BL/6J マウスにゾレドロン酸 (zoledronic acid: ZOL) (250 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$) を 2 日毎に腹腔内投与し、さらに並行して左側上顎第一臼歯部に 5-0 絹糸を結紮し、周囲歯周組織に LPS (*P.gingivalis* 由来) (Sigma-Aldrich) 5 μg を 1 週間毎に計 5 回投与し、炎症を惹起させた絹糸結紮歯周炎による骨吸収抑制薬関連顎骨壊死モデルを作製した。投与開始 3 週間後より、左側上顎第一臼歯部周囲歯肉に anti-G-CSF antibody (R&D SYSTEMS) 1.5 μg を局所投与 (3 回/週) し、anti-G-CSF 投与群とした (Fig. 1)。一方、control 群は生理食塩水を局所投与した。投与開始 5 週後に、歯肉粘膜および顎骨を含めた組織を採取し、HE 染色および TRAP 染色を行い、病理組織学的に評価を行った。

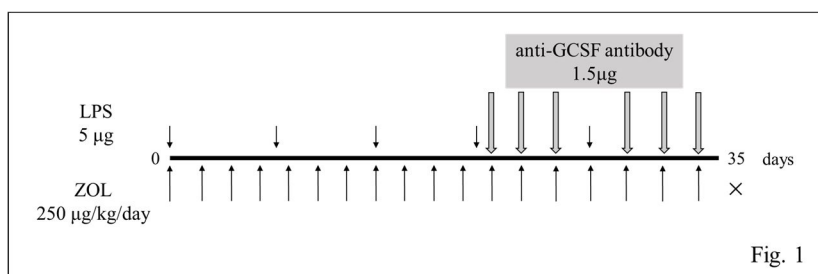


Fig. 1

4. 研究成果

TRAP 染色では、コントロール群および anti-G-CSF 投与群ともに有意な TRAP 染色陽性破骨細胞は認められなかった。顎骨に対するゾレドロン酸作用である破骨細胞の抑制効果を確認した (Fig. 2)。

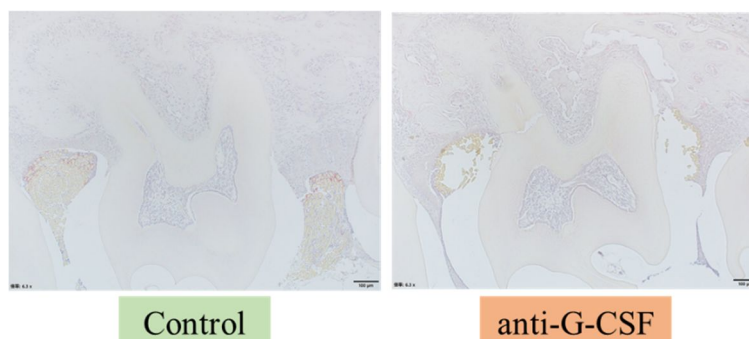


Fig. 2

μ CT 画像により炎症を惹起させた第一大臼歯部の歯槽骨吸収を確認した (Fig. 3)。HE 染色では、明らかな骨露出は認めなかったが、歯槽骨頂部に empty lacunae を確認した。anti-G-CSF 投与群はコントロール群と比較して empty lacunae の減少を認め (Fig. 4 矢印: empty lacunae) 骨壊死が制御されている可能性が示唆された。

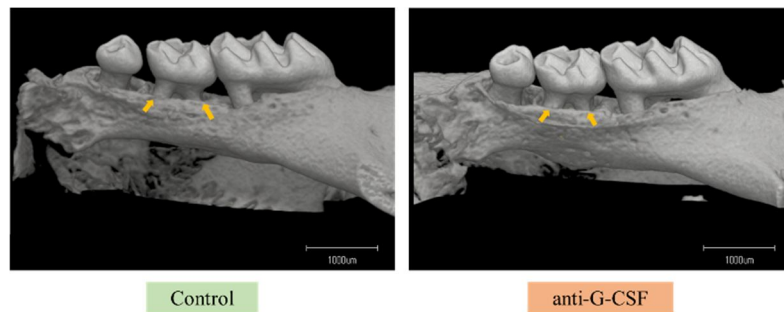


Fig. 3

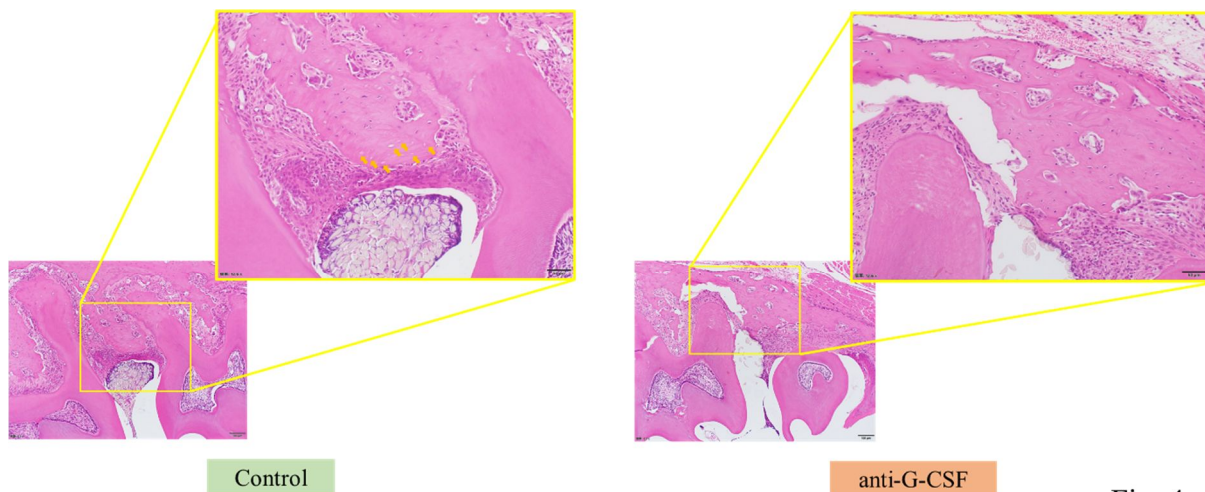


Fig. 4

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 Oshitani M, Takaoka K, Ueta M, Tomimoto K, Hattori H, Yoneda N, Yamanegi K, Noguchi K, Kishimoto H.	4. 巻 25
2. 論文標題 G-CSF delays tooth extraction socket bone healing via the inhibition of bone turnover in mice.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Exp Ther Med.	6. 最初と最後の頁 1-7
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/etm.2023.11803.	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1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Oshitani M, Takaoka K, Ueta M, Hattori H, Kakimoto T, Nosaka S, Noguchi K, Kishimoto H
2. 発表標題 G-CSF delays tooth extraction socket bone healing via the inhibition of bone turnover in mice
3. 学会等名 The 35th Annual Conference on Oral and Maxillofacial surgery, Taipei,
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
---------	---------