

令和 6 年 5 月 17 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2023

課題番号：22K19608

研究課題名（和文）難治性顎骨髄炎の低酸素分子イメージングによる新規診断ストラテジー

研究課題名（英文）Novel diagnostic strategy for refractory osteomyelitis of the jaw by hypoxia molecular imaging

研究代表者

北川 善政（Kitagawa, Yoshimasa）

北海道大学・歯学研究院・教授

研究者番号：00224957

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：MRONJに対するFDG-PET/CTでは骨髄炎と周囲軟組織にFDG集積が認められ、中央の腐骨部により高いFDG集積を認めることから、壊死骨中に浸潤した炎症性細胞の活動性を反映していることが示された。他の骨髄炎と比較してMRONJのSUVmaxは有意に高く、炎症の活動性が高いことが示された。また当科ではMRONJの外科的治療時に術前後の高気圧酸素療法(HBO)を実施している。HBO前後でFDG-PET/CTを撮像することで骨髄炎の変化を観察した。MRONJでは有意に低下しており、HBOによるMRONJに対する消炎効果がFDG-PET/CTによって初めて示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、高気圧酸素療法（Hyperbaric Oxygen Therapy: HBO）の口腔外科領域での応用は、急速に広がりを見せつつある。歯科領域で最も難治性の炎症性疾患の一つとされたMRONJに対して、HBOは外科的治療や抗菌薬投与を補助し、効果的に創傷治癒を促進させる目的で多くの施設で使用されている。本研究はHBOによるMRONJに対する消炎効果をはじめ客観的に評価した画期的な研究であり学術的、社会的意義はおおきい。診療報酬点数も従来の200点から、平成30年度の診療報酬改定で、毎回300点と15倍に増加した。

研究成果の概要（英文）：FDG-PET/CT for MRONJ showed FDG accumulation in osteomyelitis and circumferential soft tissue, with higher FDG accumulation in the central rotted bone area, reflecting the activity of inflammasome cells infiltrating the necrotic bone. Compared to other osteomyelitis, the SUVmax of MRONJ was significantly higher, indicating a higher activity of inflammation.

In our department, pre- and postoperative hyperbaric oxygen therapy (HBO) is performed during surgical treatment of MRONJ. The osteomyelitis was significantly decreased in MRONJ, and the anti-inflammatory effect of HBO on MRONJ was demonstrated for the first time by FDG-PET/CT.

研究分野：口腔外科学

キーワード：MRONJ PET 骨髄炎 低酸素

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

薬剤関連顎骨壊死 (MRONJ) は最も難治性の口腔疾患の一つであり社会問題化している。我々は多くの慢性顎骨骨髄炎に対する高気圧酸素療法 (HBO) の有効性や FDG-PET を用いた炎症活動性の客観的評価について報告してきた。一方、口腔癌では全国に先駆けて低酸素分子イメージングとして ^{18}F -Fluoromisonidazole (FMISO) PET を臨床応用し、術前化学療法の効果の予測、HIF-1 α の病理作用および治療予後との関連を見いだした。低酸素領域は骨髄炎組織内でも形成され治療抵抗性を示すため、今回、新たに FMISO-PET を骨髄炎に応用することで炎症組織内の低酸素領域を高精度で評価できるのではないかと考えた。さらに、HIF-1 α /HRE (低酸素応答領域) による低酸素遺伝子応答によって Na $^+$ /I $^-$ 共輸送タンパク (NIS: sodium/iodine symporter) を発現する炎症細胞株を樹立し、NIS を応用した低酸素遺伝子イメージング解析技術を確立することで、炎症内の低酸素 PET トレーサーの集積領域と低酸素応答領域の分布を比較・検討したい。このような検索により、どの種類の炎症細胞で、HIF-1 α /HRE を介した低酸素遺伝子応答が起きているのか、また、遺伝子プロファイルを調べることで、MRONJ によって特異的に引き起こされている炎症性反応を明らかにすることが可能となる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、顎骨骨髄炎における低酸素領域分子イメージング診断法を開発応用し、さらに、同骨髄炎部位の組織評価・遺伝子解析を組み合わせることで、新規の診断・治療ストラテジーを確立することである。

3. 研究の方法

1) 骨髄炎の FDG-PET 評価

MRONJ を含む各種骨髄炎に対して FDG-PET および 3phase 骨シンチグラフィーを用いた画像評価を行う。

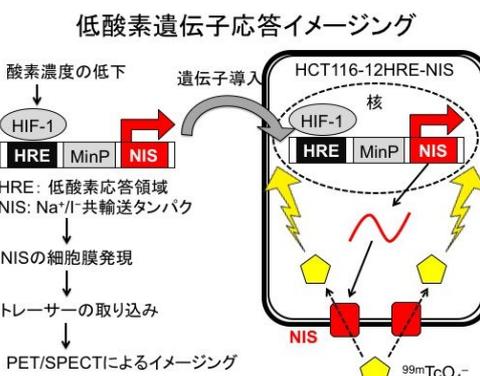
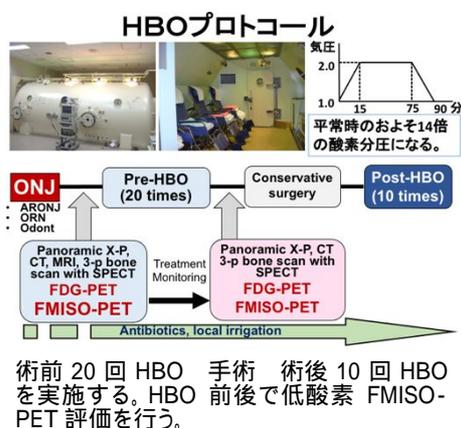
2) MRONJ に対する HBO の FDG-PET による評価

当科での高気圧酸素療法 (HBO) を併用した MRONJ への治療のプロトコルを示す (図 1)。HBO 前に画像評価を実施し、20 回の HBO を実施、さらに HBO 後に再度画像評価を行って、手術を施行する。術後数日で 10 回の HBO を行っている。これは手術前後の基本プロトコルであるが、保存療法や手術不能例に対しても適応可能で、患者の状態、状況に応じて HBO のコース数や回数を適宜決定している。

3) pGL4-12HRE-NIS を安定的にトランスフェクトしたヒト結腸癌 HCT116 細胞 (American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA) を使用した。Na $^+$ /I $^-$ 共輸送タンパク (NIS: sodium/iodine symporter) を利用して、癌細胞の低酸素遺伝子応答イメージングを行った。

HIF-1/HRE による低酸素遺伝子応答によって NIS を発現する癌細胞株を樹立し、PET ($^{124}\text{I}^-$) あるいは SPECT ($^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$) イメージングを試みた。低酸素遺伝子応答イメージングを可能にする担癌マウスを、3 つの異なる酸素環境下 (hyperoxia: 80% O_2 , normoxia: 21% O_2 , hypoxia: 10% O_2) で飼育の後、 ^{18}F -FMISO/ $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ あるいは ^{64}Cu -ATSM/ $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ を投与し、PET/SPECT 同時収集イメージングを行った。3 つの異なる酸素条件下で飼育したマウスで、デュアルトレーサーオートラジオグラフィーと PET/SPECT 同時撮影を実施した。トレーサー蓄積量と腫瘍内分布を定量化した。

4. 研究成果

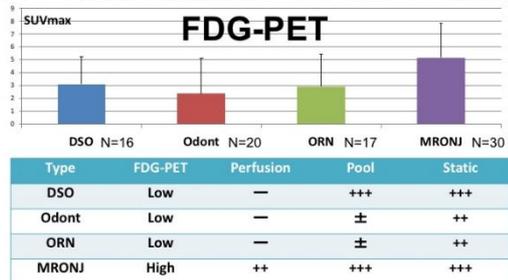


- 1) 骨髄炎の FDG-PET 評価
 MRONJ は他の骨髄炎と比較して FDG の集積が最も高かった。phase 骨シンチと PET で診断精度が向上することが分かった。FDG-PET により骨髄炎の活動性の評価が可能であることが示された。

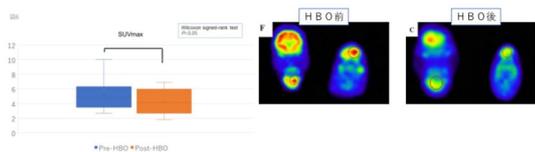
- 2) MRONJ に対する HBO の FDG-PET による評価
 MRONJ に対する外科的治療の術前に 20 回の HBO を実施し、HBO 前後で FDG-PET/CT を撮像し骨髄炎の変化を観察した。MRONJ では SUVmax が有意に低下しており、HBO による MRONJ に対する消炎効果が FDG-PET/CT によって初めて示された。しかし、SUVmax は骨髄炎のピーク値を捉えた評価であり、MRONJ における炎症の範囲や活動性そのものを評価したとは言い難い。そこで、悪性腫瘍の評価でも利用される予後予測として利用される容積指標である Metabolic Volume やさらに Metabolic Volume とその容積内の SUV 平均値をかけた Metabolic Activity を算出して、MRONJ の炎症の活動性を評価してみた。過去の大腿骨骨髄炎に対する同様の検討を参考に、SUVmax > 3 を Cut off 値として、関心領域の Metabolic Volume を算出した。この結果、HBO 前後の Metabolic Volume と Metabolic Activity 双方で有意な低下が確認された。したがって、HBO による MRONJ に対する消炎効果をはじめて定量的に評価することができた。HBO 前後で Metabolic Activity の有意な低下が観察され、MRONJ の炎症活動の低下をより俯瞰的に評価することが可能となった。

- 3) *in vitro* での $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の取り込みを調べた結果、樹立した NIS 安定発現細胞株 (HCT116-12HRE-NIS) の $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の取り込みは、正常酸素下 (21%) の $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 取り込み量と比較して、低酸素条件下 (1%) で約 17 倍の $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 取り込み量を示した ($p = 0.0001$)。また、担癌モデルマウスを用いた *in vivo* SPECT イメージングの結果、安定発現細胞株を移植したマウスでは、腫瘍内に自然に生じた低酸素領域による腫瘍への $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 取り込みを認めた。本研究の結果は、低酸素下における複数の HRE の遺伝子発現メカニズムの理解と評価に役立ち、将来的に、低酸素を標的としたイメージングや治療における基礎となるであろう。現在、HRE による遺伝子発現を治療抵抗性の新しい基準として、低酸素 PET トレーサーの腫瘍集積量と腫瘍内分布を評価する研究を進めている。これにより、低酸素に関連する癌の難治性に関する分子遺伝子レベルでの新たな知見が得られることが期待される。

4タイプの高治性顎骨骨髄炎における核医学画像評価

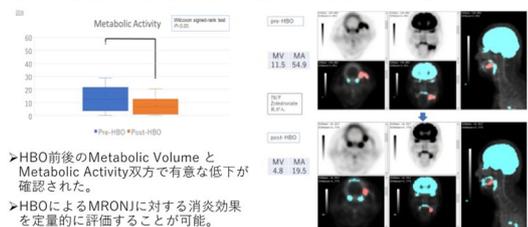


Kitagawa Y, et al: JDSR, 2019.



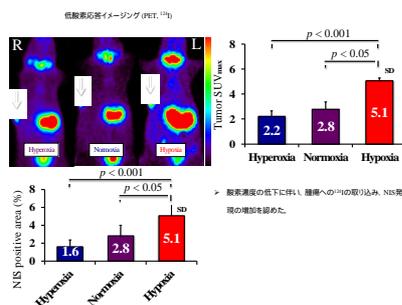
> HBO 前後の SUVmax に有意な低下が確認された。
 > SUVmax では骨髄炎のピーク値を捉えた評価であり、MRONJ における炎症の範囲や活動性そのものを評価したとは言い難い。

HBO 前後での Metabolic Volume と Metabolic Activity



> HBO 前後の Metabolic Volume と Metabolic Activity 双方で有意な低下が確認された。
 > HBO による MRONJ に対する消炎効果を定量的に評価することが可能。

高橋 悠 博士
 (京都府立医科大学) 放射線科 放射線診断学 放射線科 放射線診断学 放射線科 放射線診断学
 PaperID: 20240229



> 酸素濃度の低下に伴い、腫瘍への $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の取り込み、NIS 発現の増加を認めた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 浅香卓哉, 北川善政	4. 巻 41
2. 論文標題 【画像診断技術の新展開】歯科領域におけるFDG-PET/CTの有用性.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 日本歯科理工学会誌	6. 最初と最後の頁 207-210
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 浅香卓哉, 北川善政, 他	4. 巻 69
2. 論文標題 浅香卓哉, 北川善政, 他	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 日口外誌	6. 最初と最後の頁 134-142
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 Inubushi M, Takeuchi Y, Murai C, Kitagawa Y	4. 巻 2755
2. 論文標題 A Luciferase Reporter Assay to Detect Cellular Hypoxia In Vitro.	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Methods Mol Biol.	6. 最初と最後の頁 77-89
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-0716-3633-6_5.	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 -

1. 著者名 Inubushi M, Takeuchi Y, Kitagawa Y	4. 巻 2755
2. 論文標題 Radionuclide Reporter Imaging to Visualize Tumor Hypoxia Ex Vivo and In Vivo.	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Methods Mol Biol.	6. 最初と最後の頁 133-140
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-0716-3633-6_7.	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 -

1. 著者名 Kuroshima T, Kitagawa Y, Sato J, Watanabe S, Asaka T, Abe T, Harada H, Hirata K, Kuge Y.	4. 巻 online
2. 論文標題 Maximum standardized uptake value in 11C-methionine positron emission tomography may predict the prognosis of patients with oral squamous cell carcinoma	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Odontology	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10266-024-00946-w	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2件(うち招待講演 1件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 浅香卓哉
2. 発表標題 薬剤関連顎骨壊死に対する画像診断と高気圧酸素療法
3. 学会等名 第7回冬季口腔外科臨床研究会(東北)(招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 北川善政
2. 発表標題 MRONJ 2022ポジションペーパーで何が変わったか?
3. 学会等名 4学会合同学術大会 日本口腔診断学会 日本口腔内科学会 日本歯科薬物療法学会 日本口腔乾燥症学会(招待講演)
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
研究分担者	平田 健司 (Hirata Kenji) (30431365)	北海道大学・医学研究院・准教授 (10101)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	渡邊 史郎 (Watanabe Shiro) (10802415)	北海道大学・大学病院・助教 (10101)	
研究分担者	佐藤 淳 (Sato Jun) (60319069)	北海道大学・歯学研究院・准教授 (10101)	
研究分担者	浅香 卓哉 (Asaka Takuya) (80637265)	北海道大学・歯学研究院・助教 (10101)	
研究分担者	竹内 康人 (Takeuchi Yasuto) (10735187)	金沢大学・がん進展制御研究所・助教 (13301)	
研究分担者	犬伏 正幸 (Inubushi Masayuki) (70399830)	川崎医科大学・医学部・准教授 (35303)	
研究分担者	網塚 憲生 (Amizuka Norio) (30242431)	北海道大学・歯学研究院・教授 (10101)	

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
---------	---------