

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 19 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25463161

研究課題名(和文) アセチルサリチル酸によるBRONJ発症の予防法の開発

研究課題名(英文) Development of preventive method for BRONJ with acetylsalicylic acid

研究代表者

吉村 善隆 (YOSHIMURA, Yoshitaka)

北海道大学・歯学研究科(研究院)・准教授

研究者番号：30230816

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：ビスホスホネート(BP)製剤服用者に発症する抜歯後の顎骨壊死(BRONJ)は、極めて重篤な症状を呈し、難治性の疾患であるが、十分な解明がなされているとは言えない。そのため、早期に予防法および治療法を確立することが望まれている。そこで、本研究では、BRONJに対するアセチルサリチル酸(アスピリン)の作用と効果を明らかにすることを目的とした。BRONJ発症過程において、アセチルサリチル酸を投与することで炎症反応が軽減した。以上の結果から、アセチルサリチル酸はBRONJを軽症化する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Bisphosphonates-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ) is the intractable disease that is osteonecrosis of the jaw in a patient who was receiving or had been exposed to bisphosphonate therapy. However, the mechanisms of BRONJ are not fully understood, and appropriate therapies have yet to be established. The aim of this study was the effect of acetylsalicylic acid (aspirin) on BRONJ. By the analysis of the BRONJ model mouse, an inflammatory reaction was reduced with acetylsalicylic acid. It was suggested that acetylsalicylic acid might reduce a BRONJ symptom.

研究分野：矯正・小児系歯学

キーワード：歯学 ビスホスホネート

1. 研究開始当初の背景

ビスホスホネート(BP)製剤服用者に発症する、抜歯後の顎骨壊死(BRONJ)は、歯科臨床において重大な懸案事項となっている。BP製剤投与中の患者に対して侵襲的歯科治療を行う場合、BP製剤の休薬が推奨されている。しかし、BP製剤の休薬がBRONJ発生を予防するという明らかな臨床的エビデンスは存在していない。そのため、BRONJの治療法あるいは予防法を確立することが、我々歯科分野に関わる者にとって重要な課題になっている。

BP製剤は、小児においても小児骨形成不全や骨ペーজেット病などの骨代謝異常疾患の治療薬として使用されている。そのため、小児歯科領域においても、BP製剤服用者の患者に遭遇する可能性がある。BP製剤を服用している小児に対する侵襲的外科処置の是非に関しては、検討さえ行われていない状況である。

治療法および予防法が確立していない理由の一つは、BRONJ発症メカニズムが不明であったためである。本研究分担者の菊入は、世界で初めてBRONJ症状を呈するモデルマウスを作製し、BRONJ発症メカニズムについての報告を行い、細胞障害性T細胞が活性化されることが発症の引き金になっていることを明らかにした(Kikuri *et al.* Journal of Bone and Mineral Research 25: 1668-79, 2010)。そこで、アセチルサリチル酸を用いてBRONJ発症経路を阻害することで、BRONJの発症を予防することが可能であると考え、本研究を申請するに至った。

2. 研究の目的

ビスホスホネート(BP)製剤服用者に発症する抜歯後の顎骨壊死(BRONJ)は、極めて重篤な症状を呈し、難治性の疾患であるが、十分な解明がなされているとは言えない。そのため、早期に予防法および治療法を確立することが望まれている。そこで、本研究では、BRONJに対するアセチルサリチル酸(アスピリン)の作用と効果を明らかにし、BRONJ治療法に関する基礎研究を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

(1)BRONJモデルマウスにおけるアセチルサリチル酸の効果についての検討

アセチルサリチル酸投与群と非投与群において、窒素含有の第3世代ビスホスホネート(BP)製剤であるZometa(ゾレドロン酸)を毎週2回、尾静脈より静脈内投与した(Kikuri *et al.* Journal of Bone and Mineral Research 25: 1668-79, 2010)。一週間後に上顎第一臼歯(m1)の抜歯を行い、抜歯直前、抜歯後2週、3週、8週にマウス眼窩より血液を採取した。抜歯後8週で屠殺し、上顎骨および血液を回収した。摘出した上顎骨は浸漬固定後、 μ CTにて抜歯窩の観察を行った。

また、回収した血液中のTh17細胞および他の免疫細胞の数を定量した。血清はELISA法によりIL-1、TNF- α 、IL-17などのサイトカイン量を測定し、免疫細胞との関連性について考察した。

4. 研究成果

抜歯2か月後において、Zometa非投与群(コントロール群)では抜歯窩が上皮で被服され、正常に治癒した(図1a)。これは μ CT像でも確認された(図1b)。



図1a: コントロール群の抜歯窩における肉眼像

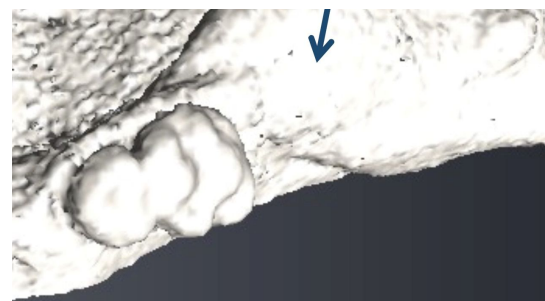
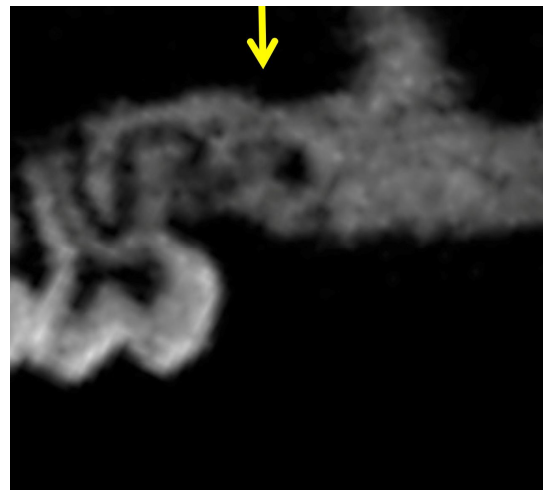


図1b: コントロール群の抜歯窩における μ CT像

アセチルサリチル酸非投与群では、抜歯窩が上皮で被服されず、歯槽骨が露出しているBRONJ様症状を発症した(図2a)。



図 2a: アセチルサリチル酸非投与群の抜歯窩における肉眼像

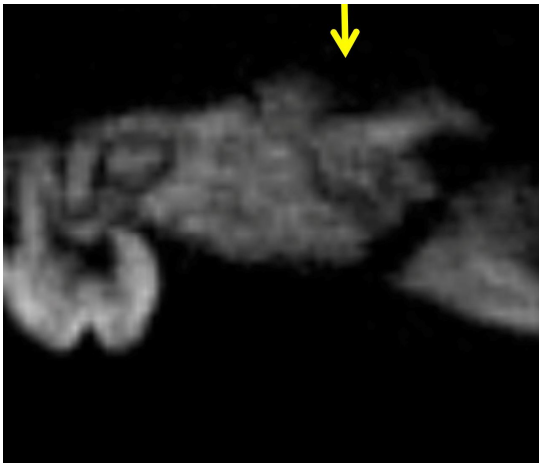


図 2b: アセチルサリチル酸非投与群の抜歯窩におけるμCT像

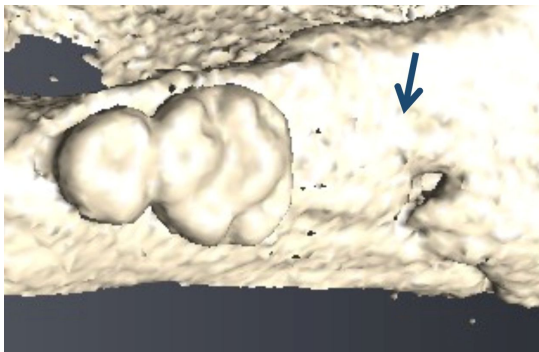


図 3a: アセチルサリチル酸投与群の抜歯窩における肉眼像

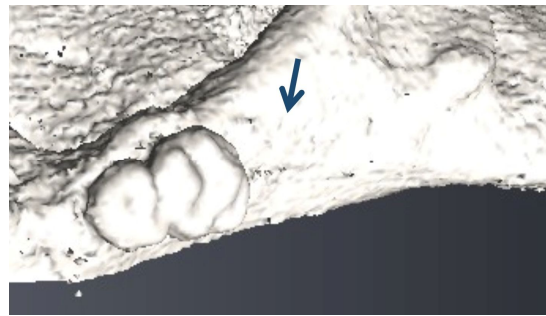
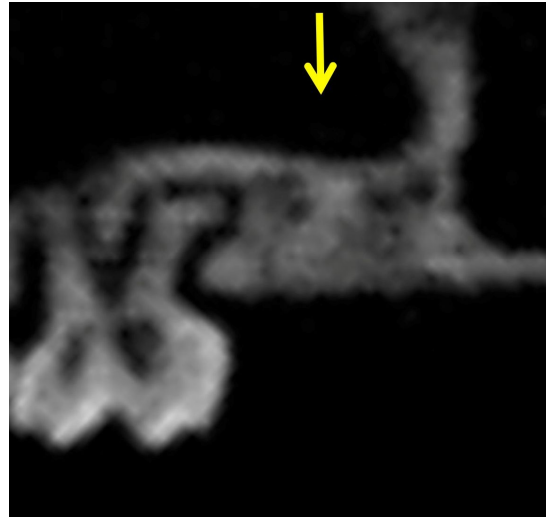


図 3b: アセチルサリチル酸投与群の抜歯窩におけるμCT像

また、μCT 像において抜歯窩治癒不全を確認した(図 2b)。脱灰後に作成した組織切片では、抜歯窩周囲の歯槽骨における骨細胞の喪失していた。

一方、抜歯 2 か月後のアセチルサリチル酸投与群においては、全てのマウスの抜歯窩は上皮で被服されており、ほぼ正常に治癒した(図 3a)。これはμCT 像でも確認された(図 3b)。組織切片では、抜歯窩周囲の歯槽骨における骨細胞の喪失は減少していた。

アセチルサリチル酸非投与群において、抜歯窩における顎骨壊死部の周囲では、好中球の浸潤を伴う炎症所見が広範囲に確認されたのに対し、アセチルサリチル酸投与群では顎骨壊死部の周囲において浸潤している好中球の数は有意に減少し、炎症状態を呈している組織像の範囲は減少していた。一方、血中の Th1 細胞数を測定したところ、アセチルサリチル酸投与群ではアセチルサリチル酸非投与群に対して有意に減少していることが判明した。また血漿中の TNF- α および IL-1 β の濃度を定量したところ、アセチルサリチル酸投与群ではアセチルサリチル酸非投与群と比較して同じく有意に低下していることが判明した。

また、アセチルサリチル酸投与群に比べアセチルサリチル酸非投与群において、Treg 細胞の機能低下に伴う Th17 細胞の増加と血中 IL17 濃度の上昇が認められた。

これらに関して、CD25 中和抗体の投与は

BRONJ 症状を悪化させることが認められた。

以上の結果より、アセチルサリチル酸を投与することで炎症反応が軽減し、また Treg 細胞の機能低下による Th17 細胞の免疫応答が収束し、BRONJ を軽症化する可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉村 善隆 (YOSHIMURA, Yoshitaka)

北海道大学・大学院歯学研究科・准教授

研究者番号：30230816

(2) 研究分担者

菊入 崇 (KIKUIRI, Takashi)

北海道大学・大学院歯学研究科・助教

研究者番号：10323819

(3) 連携研究者

なし