

令和 6 年 5 月 22 日現在

機関番号：34419

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K21051

研究課題名（和文）ビスフォスフォネート製剤関連顎骨壊死の病態機序の解明と、PAI-1の関与についての検討

研究課題名（英文）Elucidation of the pathomechanism of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw and investigation of the involvement

研究代表者

木下 優子（Kinoshita, Yuko）

近畿大学・大学病院・助教

研究者番号：90962803

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：ビスフォスフォネート(BP)製剤の開発により、骨粗鬆症や悪性腫瘍骨転移の治療成績は向上したが、一方で、重大な副作用として顎骨壊死(BRONJ)が問題になっている。癌患者の長期生存率の向上に伴いBRONJ患者数は増加しているが、そのメカニズムには未だ不明な点が多く、治療方法が確立されておらず根治が難しいのが現状である。

申請者らは、糖尿病モデルマウスを用いた検討によりPAI-1が骨修復遅延に関与することを見いだした。本研究では、BRONJモデルマウスの確立と、それを用いてBRONJ発症過程におけるPAI-1の関与を検討することにより、BRONJの治療法を改良することを目的として実験を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

BP製剤投与開始前に医師より歯科へ紹介することでBRONJ発症はある程度予防・管理され则认为るが、全症例の紹介は困難なのが現状である。本研究においてPAI-1がBRONJ発症のリスク因子であることが証明されれば、医師単独でもBRONJ発症リスクを事前に評価可能となる可能性がある。さらに、BRONJとPAI-1の関連やBRONJ発症メカニズムの詳細な解明がBP製剤以外の抗RANKL抗体製剤や血管新生阻害剤等によるBRONJ以外の顎骨壊死のメカニズムの解明や治療につながる可能性は十分にある。本研究で期待できる成果は、顎骨壊死の分子機序の解明だけでなく、臨床成績にも大きく貢献できると確信している。

研究成果の概要（英文）：The development of bisphosphonates has dramatically improved the treatment results for osteoporosis and malignant tumor bone metastases, but on the other hand, osteonecrosis of the jaw (BRONJ) has become a serious side effect. Although the number of BRONJ patients is increasing as the long-term survival rate of cancer patients improves, there are still many obvious points about the mechanism, and it is difficult to completely cure the disease because the treatment method hasn't been established. Through studies using diabetic model mice, we found that PAI-1 is involved in delayed bone repair.

In this study, we attempt to establish the BRONJ model by using mice. Furthermore, the purpose of this study is to improve the treatment of BRONJ by examining the involvement of PAI-1 in the onset of BRONJ.

研究分野：外科系歯学

キーワード：薬剤関連顎骨壊死 PAI-1 組織線溶系 糖尿病 ビスフォスフォネート製剤

1. 研究開始当初の背景

2003年に多発性骨髄腫や癌の骨転移の患者にBP製剤を投与した症例で顎骨に壊死が発生したことが報告され、BP製剤関連顎骨壊死(BRONJ)として以降多く報告されるようになった(JOMS 2003)。BP製剤は、骨組織に吸着し破骨細胞機能を抑制することで骨吸収を阻害する薬剤である。BP投与後に口腔・顎・顔面領域に骨露出や骨壊死が8週間以上持続していること等によりBRONJと診断される。近年、新たな分子標的治療薬の開発による悪性腫瘍治療の進歩により、癌患者の平均余命が改善しており、それに伴いBP投与期間が長くなる傾向があるため、近年BRONJ患者は増加の一途を辿っている。BRONJは発症すると根治が難しく、顎骨の喪失などにより患者のQOLが著しく低下するため、治療法の確立が急務である。発生機序は不明であるが、BP製剤による骨リモデリングの抑制と過度の破骨細胞活性の抑制、免疫機構の変化、血管新生抑制作用などの要因と、患者本人のリスク因子が複合的に関与していると考えられている。全身的因子として、担癌状態、糖尿病、関節リウマチ等の全身疾患や、抗癌薬、副腎皮質ステロイド等の併用が関与するといわれているが、詳細なメカニズムは不明である。申請者は、予備的な検討において、糖尿病病態マウスは、野生型マウスと比べてBRONJ発症率が高い可能性を観察している。そのため、糖尿病において全身に生じる生理的な変化が、BRONJ発症のメカニズムに関与している可能性がある。

また、PAI-1はプラスミノゲン活性化因子と線維素溶解を抑制する悪玉アディポサイトカインとして知られ、申請者の所属するグループでは、マウス大腿骨骨欠損モデルを用いた骨修復解析実験において、糖尿病による骨修復遅延にPAI-1が関与していることを報告している(Diabetes 2013)。さらに、糖尿病病態において血中PAI-1が増加すること、PAI-1が糖尿病によって誘発される骨修復の遅延に関与していることがすでに示されている。また、PAI-1は、非アルコール性脂肪性肝疾患や癌などの他の病態にも関与しており、疾患活動性のマーカーとして、また、治療薬開発の標的としても注目されている(Compr Physiol 2016)。これらの背景より、申請者は、PAI-1がBRONJの発症や悪化に関与する可能性があるのではないかと考えている。

2. 研究の目的

ビスフォスフォネート関連顎骨壊死(BRONJ)は根治が難しく、顎骨の喪失によりQOLが著しく低下するため、治療法の確立や発症機序の解明が急務である。

申請者のグループは、Plasminogen activator inhibitor-1(PAI-1)が糖尿病による骨修復遅延に関与し、その機序にマクロファージが関与することを報告している。BRONJの病態においてもマクロファージが関与するという報告があるため、PAI-1がマクロファージ機能を障害することがBRONJの病態に関与する可能性がある。

BP製剤を投与するのは医師であるが、BRONJ発症後の治療の担当は歯科医師である。そのため、相互の情報提供が不十分になりやすく、副作用の実情が十分に共有されていない可能性もあると申請者は考える。定期的な歯科受診でBRONJの発症はある程度予防できるが、歯科を受診するかどうかは患者やBP処方医に委ねられているのが現状である。本研究において、BRONJの発症メカニズムやPAI-1がBRONJ病態における重要な因子であることが証明されれば、医師単独でのBRONJ発症のリスク評価が可能となり、医師・歯科医師双方におけるBRONJの発症リスクの共有や、発症後の対応が可能となり、さらに顎骨壊死治療への応用も期待できる。

3. 研究の方法

本研究では顎骨壊死と糖尿病(DM)、顎骨壊死とPAI-1の関与を調べることで、顎骨壊死の発症機序を解明することを目的に実験を行った。

(1)野生型マウス(WT)とDMモデルマウスにゾレドロン酸(ZA)を投与し、顎骨壊死とDMの関連について検討する。

WTマウスにストレプトゾトシン(STZ)とZAを投与することでDMや顎骨壊死を誘発し、以下4群のマウスを用いて検討を行う。

【 STZ (+) ZA (+) STZ (+) ZA (-) STZ (-) ZA (+) STZ (-) ZA (-) 】

各群のマウスの上顎第一大臼歯を抜去して顎骨壊死を誘発し、マイクロCT撮影にて抜歯窩に生じる新生骨の有無により顎骨壊死発症を確認する。さらに、骨密度、3D再構築画像解析で顎骨壊死を評価する。また、組織標本作製し、HE染色、CD31染色、F4/80染色を行うことで骨小腔の評価、破骨細胞、血管新生、マクロファージの浸潤・貪食機能などを評価する。

(2)PAI-1欠損マウスにDM、顎骨壊死を誘発することで顎骨壊死とPAI-1の関連について検討

する。

以下の4群のマウスを用いて(1)と同様の解析を行い、PAI-1と顎骨壊死の関連をより詳細に検討する。

【 PAI-1 遺伝子欠損マウス (PAI-1KO)、STZ(+) PAI-1KO、STZ(-) WT、STZ(+) WT、STZ(-)】

4. 研究成果

BRONJモデルマウス作成にあたり、マウスは個体のサイズが小さく、マウスの上顎第一大臼歯の抜歯を行うことが非常に困難であり、正確に抜歯できないことにより顎骨壊死の評価ができない検体も多く、抜歯の手技を確立することに苦慮した。

上記方法で作成した各群における抜歯14日後のマイクロCT画像では、STZ投与群で骨修復の遅延を認めた。(図1)

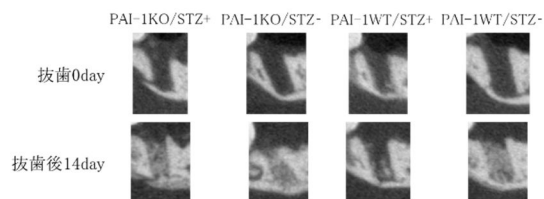


図1: 抜歯0day, 14dayのマイクロCT画像

Control群では抜歯後14日で骨修復が進んでいるのに対し、STZ投与群では骨修復遅延を認める。

また、組織学的評価により、骨小腔、破骨細胞、血管新生、マクロファージの浸潤・貪食機能などを評価したが、いずれも各群において有意な差は認めなかった。モデルマウス作成に期間を要したことなどからも今回は検討できなかったが、今後はマイクロCT解析にてBV/TVの検討を追加し、さらに、採取した血清から血清PAI-1、血清オステオカルシンなど骨形成マーカー、骨吸収マーカーの測定や、採取した局所骨組織を用いて局所のPAI-1発現の解析を行い、顎骨壊死と糖尿病、また、それに関与するPAI-1の影響についても検討が必要であると考えている。また、BRONJモデルマウスにおいて、顎骨壊死発症部位にPAI-1阻害薬徐放製剤を局所投与し、局所のPAI-1を抑制することにより、顎骨壊死の改善効果があるか検討し、顎骨壊死治療薬としてのPAI-1阻害薬の応用についても今後の検討課題である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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
---------	---------