

平成 30 年 6 月 22 日現在

機関番号：27102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K11321

研究課題名(和文)テトラサイクリン骨蛍光標識法を用いた薬物療法関連顎骨壊死の外科的治療法の確立

研究課題名(英文) Establishment of surgical treatment of medication-related osteonecrosis of the jaws using tetracycline fluorescent labeling method

研究代表者

笹栗 正明 (Sasaguri, Masaaki)

九州歯科大学・歯学部・准教授

研究者番号：00225898

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：薬剤関連顎骨壊死(MRONJ)の病変部切除範囲の決定におけるVEL scope投与骨蛍光評価の有用性を検討した。BRONJ発症ラットをミノマイシン投与群とミノマイシン非投与群に分け、VEL scope骨蛍光評価を行った。結果：ミノマイシン投与群のほうが蛍光部と非蛍光部のコントラストが良い印象であった。組織学的には蛍光部は正常な骨構造を呈し、非蛍光部は壊死骨であった。臨床例においてもVEL scope骨蛍光評価による切除で、組織学的に蛍光部は健全骨構造を認め、非蛍光部は壊死骨であった。以上よりミノマイシン投与を併用したVEL scope骨蛍光評価はMRONJの切除範囲決定に有用と考えられた。

研究成果の概要(英文)：Objectives: The purpose of this study was to determine the potential of tissue fluorescence imaging by using Visually Enhanced Lesion Scope (VELscope_) for the detection of osteonecrosis of Medication related Osteonecrosis of the Jaw. MRONJ model rat could be made by bone drilling with LPS. MRONJ model rats were divided into two groups; Minomycin administrated group (subcutaneous injection of Minomycin for 7 days) : M(+) and Minomycin non-administrated group : M(-). Bone fluorescence evaluation by VEL scope was compared between two groups. We got the impression that the contrast between the fluorescent part and the non-fluorescent part was more clear in M(+) group than in M(-) group. Histopathological findings of the fluorescent part was normal structure of bone, on the other hand the non-fluorescent part showed necrosis of bone pathological bone. Conclusion: VELscope examination is a suitable tool to visualize necrotic areas of the bone in MRONJ.

研究分野：口腔外科

キーワード：MRONJ ARONJ BRONJ ミノマイシン 骨蛍光標識法

1. 研究開始当初の背景

薬剤に関連する顎骨壊死は2003年に米国の口腔外科医 Marx がビスホスホネート(BPs)を投与されている患者が抜歯などの外科的歯科治療を受けた後に、顎骨壊死を発症することを報告して以来、ビスホスホネート関連顎骨壊死(Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw: BRONJ)として世界的に報告が増加し、病態の解明や治療法に関する研究が進められている。BPsは破骨細胞抑制による強力な骨吸収抑制作用により、骨粗鬆症、骨転移性の腫瘍(乳癌、前立腺癌、肺癌など)、多発性骨髄腫、骨形成不全など骨吸収亢進を伴う多くの疾患に広く応用されているが、窒素含有BPs(NBPs)が顎骨壊死と骨露出をもたらすことが明らかとなった。近年、BPsとは異なる作用機序で破骨細胞を抑制する薬剤、つまり破骨細胞の分化誘導因子であるRANKL(Receptor Activating Nuclear Kappa B Ligand)を標的とする抗RANKL抗体製剤であるデノスマブが用いられるようになった。しかし、デノスマブでも顎骨壊死を誘発することが報告されるようになり、これら薬剤による顎骨壊死は従来のBRONJから薬物療法関連顎骨壊死(MRONJ: Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw)といわれるようになった。BRONJの予防法・治療法は見つかっておらず、発生した場合には非常に難治性で、中には広範囲な骨壊死・骨露出や感染を引き起こすものもあり、患者のQOLに与える影響は極めて大きい。現在のところ、MRONJは発症すると治療に難渋し、BRONJに対する有効な治療方法はなく、基本的には保存的治療により腐骨分離を待つのが現状で、患者は長期間の病脳期間を強いられることになる。一部の症例には外科的治療が行われている。しかし、外科的治療を行う際に問題となっているのが切除範囲の決定である。肉眼的にはその判断に苦慮する場合

が多く、不十分な切除では再発や病巣拡大を起こす事がある。そこで、それらの問題を解消すべく新しい病巣の蛍光標識による外科的切除方法の精度と有用性を検討し、外科的治療戦略の指針を得る事を急務と考える。

BRONJの治療法としては現在のところ保存的な治療法がポジションペーパーおよび日本口腔外科学会でも推奨されているが、治療期間が長くなる傾向があり、また治療に難渋するケースも少なくない。我々の施設でも世界で初めてテリパラチド(TPD)を1週間に1度投与することによりstage3の重症例が短期間で治癒したことを報告し(Yoshiga D et.al., *Osteoporos Int.* 31. 2013), TPDを使える患者に関しては治療期間の短縮が認められ良好な経過を辿っているが、TPDを使わず保存的治療を行っているが治療期間が長くなる難症例がまだまだ多く見られる。

施設間で方針に差はあるが、癌の治療で早急にBPSやDmabを再開しなければならない症例や保存的治療では悪化した症例などは積極的に外科的治療を行っている施設が見られるようになってきた。しかし、そこで問題となるのが切除範囲である。実際、肉眼では判断しかねる部分が多い。そのため、取り残しが生じた場合、手術はおこなったが再発したりして局所洗浄を繰り返さざるをえない症例を認める事がある。そこでわれわれは、テトラサイクリン系薬剤が骨移行性がよく、紫外線を照射すると蛍光を発する性質に着目した。健康な骨と不健康な除去必要な骨との境界を明示するために、術前にテトラサイクリン系薬剤であるミノサイクリンを投与し、術中にVELscopeを用いた骨蛍光標識法により確実に不健康な骨切除を行い良好な経過を得ている(図4)。現在、世界中の研究者がBRONJの新しい治療法の開発に力を入れBRONJの治療効果の向上、患者のQOL改善が認められつつある中、われわれ外科医も最新の技術を用いた治療が要求されている。

2. 研究の目的

今後、BP 製剤の使用者数は増加することが予想される。特に癌の治療では早急に BPs 再開しなければならない症例や保存的治療では悪化した症例などは積極的に外科的治療を行っている施設が見られるようになってきた。しかし、そこで問題となるのが切除範囲である。実際、肉眼では判断しきれぬ部分が多い。そのため、取り残しが生じた場合、手術はおこなったが再発したりして局所洗浄を繰り返さざるをえない症例を認める事がある。そこでわれわれは、テトラサイクリン系薬剤が骨移行性がよく、紫外線を照射すると蛍光を発する性質に着目した。健康な骨と不健康な除去が必要な骨との境界を明示するために、術前にテトラサイクリン系薬剤であるミノサイクリンを投与し、手術中に VELscope を用いた骨蛍光標識法により確実に不健康な骨切除を行い良好な経過を得ている(図4)。現在、世界中の研究者が BRONJ の新しい治療法の開発に力を入れ BRONJ の治療効果の向上、患者の QOL 改善が認められつつある中、われわれ外科医も最新の技術を用いた治療が要求されている。本研究では BRONJ の外科的治療法を確立することを目的とする。

3. 研究の方法

MRONJ モデルラットの作製

デノスマブ 0.5mg を 3 回 / 週 (3 週間) 皮下注射する。BP 投与群、デノスマブ投与群ともに、MRONJ 発症の危険因子となるデキサメタゾン: DX (1 mg/kg) を 3 回 / 週 (3 週間) 皮下注併用群も作製。最終投与から 1 週間後に、麻酔薬を腹腔内注射し、上顎臼歯抜歯および骨穿孔 + LPS 埋入により MRONJ 発症させる

BRONJ と DRONJ の病態の違いを比較
BRONJ ラット、DRONJ ラットの骨代謝

マーカー (sNTX, sP1NP) の測定を ELISA にて行い、骨代謝マーカーの動態の違い、顎骨壊死状態の肉眼的、組織学的な違いを検討する。

ミノマイシン蛍光標識切除による顎骨切除範囲可視化の妥当性を確認

8 週齢のメスラットを BPs 投与の有無、ミノマイシンの投与の有無により郡分けして検討を行った。Group1: BPs を 4 週間投与 (BPs 0.1 mg/kg を 1 週間に 1 回腹腔注射)、ミノマイシン (30 mg/kg/day) を 7 日間皮下注射する。Group2: BPs を 4 週間投与 (BPs 0.1 mg/kg を 1 週間に 1 回腹腔注射)。ミノマイシン投与なし。Group3: BPs を投与しない。ミノマイシン (30 mg/kg/day) を 7 日間皮下注射する。Group4: BPs を投与しない。ミノマイシン投与なし。ゾメタ、ミノマイシンの投与を行わない群は control として生理食塩水を同量投与した。BPs 投与群には 4 週間ゾメタを投与する(この方法は以前当教室で報告してきた方法である)。

臨床症例におけるテトラサイクリン蛍光標識法による外科的切除の有効性の検討

MRONJ の病態に応じた蛍光標識法を用いた新規治療法の確立

4. 研究成果

BP または Dmab 投与ラット大腿骨穿孔による BRONJ 及び DRONJ の発症。

- BP + 骨穿孔群: BRONJ 発症なし
- BP + 骨穿孔 + LPS 群: BRONJ 発症
- Dmab + 骨穿孔群: DRONJ 発症なし
- Dmab + 骨穿孔 + LPS 群: DRONJ 発症

BP、Dmab 投与群に骨穿孔の外科的侵襲を加えるのみでは MRONJ を発症させることはできないが、骨穿孔部に LPS を埋入することで MRONJ ラットの作製が可能

であった。

BRONJ ラットと DRONJ ラットにおいて組織学的に壊死骨の形成を認めるが、ラット BRONJ と MRONJ の間で、組織学的に明らかな違いは観察できなかった。

ミノマイシン投与群、非投与群いずれも骨蛍光は確認できた。しかし、その程度には差が認められた。定量的評価ではないがミノマイシン投与群のほうが蛍光の強い部分と弱い部分のコントラストが付いている印象を受けた。メルファ - スチールラウンドバーにて皮質骨を一度穿孔させる手術を行った部分は非蛍光であった。

症例

65 歳、女性 右側下顎骨 MRONJ

骨露出部を開窓し 3 か月洗浄するも腐骨分離を認めないため、外科的切除の対象とした。

本研究のラットを用いた実験に基づき、切除前 7 日間ミノマイシンを服用した。切除の際の切除範囲決定においては、ベルスコープを用い蛍光部と非蛍光を同定し、切除した。肉眼的には健常に見えても、非蛍光部は病的な部分として切除した。ベルスコープで非蛍光部は組織学的には壊死骨の状態であり、蛍光部は健常な組織像を呈した。

以上の結果より、術前にミノマイシンを服用し、切除に際してベルスコープによる蛍光評価を行うことは、切除範囲の決定に有用と考えられた。

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 3 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

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

笹栗 正明 (SASAGURI Masaaki)
九州歯科大学・歯学部・准教授
研究者番号 : 00225898

(2) 研究分担者

吉賀 大午 (YOSHIGA Daigo)
九州歯科大学・歯学部・准教授
研究者番号 : 10507784

松尾 拡 (MATSUO Kou)
九州歯科大学・歯学部・教授
研究者番号 : 70238971

(3) 連携研究者 なし
()

研究者番号 :

(4) 研究協力者 なし
()