

令和 3 年 5 月 15 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K11835

研究課題名(和文)メタボローム解析を用いたARONJに対する新規LED治療の開発

研究課題名(英文)Low-level laser therapy: A novel therapy for ARONJ with metabolomic analysis

研究代表者

鈴木 泰明(Hiroaki, Suzuki)

神戸大学・医学研究科・医学研究員

研究者番号：10397812

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：骨吸収抑制薬関連顎骨壊死の治療は、国外では以前より低反応レベルレーザー治療が適応されている。近年、低反応レベルレーザー治療はレーザー以外にLED等の光源も含め低反応レベル光治療として認知されつつあり、LED光の骨吸収抑制薬関連顎骨壊死に対する有効性を見出すべく本研究を開始した。培養口腔内常在菌に対するLED照射効果の解析を行った。Streptococcus salivariusを対象に、405、630、950nmの波長で照射を行い、LED照射群とLED非照射群(コントロール群)の生存細菌数を比較し、LED照射群での生菌数の減少を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

培養口腔内常在菌に対するLED照射効果は、Streptococcus salivariusにおいて405、630、950nmのいずれの波長でも生菌数の減少を認めた。LED光のARONJに対する有効性を見出し、レーザーよりも安価で簡便なLEDによる新規のARONJ治療機器開発へつなげる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：For the treatment of anti-resorptive agents-related osteonecrosis of the jaw, Low reactive Level Laser Therapy is indicated overseas than before. In recent years, Low reactive Level Laser Therapy has been recognized as Low reactive Level Light Therapy including light sources such as LEDs in addition to lasers, and this research was started to find out the effectiveness of LED light for anti-resorptive agents-related osteonecrosis. The effect of LED irradiation on the indigenous bacteria in the cultured oral cavity was analyzed. Streptococcus salivarius was irradiated at wavelengths of 405, 630, and 950 nm, and the number of viable bacteria in the LED-irradiated group and the LED-non-irradiated group (control group) was compared, and a decrease in the viable cell count in the LED-irradiated group was observed.

研究分野：口腔外科

キーワード：低出力レーザー治療 顎骨壊死 メタボローム解析

## 1. 研究開始当初の背景

近年、ビスホスホネート (BP) 製剤とは別の骨吸収抑制機序をもつ分子標的薬デノスマブにおいても顎骨壊死が発生し、骨吸収抑制薬に関連する顎骨壊死は Anti-resorptive agents-related osteonecrosis of the jaw: ARONJ と総称されるようになってきている。2003 年に Marx らによって BP 系薬剤関連顎骨壊死 (Bisphosphonate related osteonecrosis of the jaw: BRONJ) が初めて報告されてから 10 年以上が経過し、これまでの数々の症例の蓄積と分析により病態への理解が徐々に広まるとともに、予防法と治療法についても経験的に一定の解明がなされつつある。こうした中で 2016 年、日本口腔外科学会を含む関連 6 学会共同のもとで、『骨吸収抑制薬関連顎骨壊死の病態と管理：顎骨壊死検討委員会ポジションペーパー2016』が公開された。その記載によれば、ARONJ には臨床症状によるステージングの後、それに沿った治療法が選択、適応されることとなるが、「いずれも確固とした医学的エビデンスによって有効性が証明されているものではなく、これまでの報告、エキスパートの意見を集約したもの…」と補足されているように、未だ十分な前向きなエビデンスが得られておらず、今後も新たな作用メカニズムを有する骨吸収抑制薬が次々に登場してくることを鑑みると、確かな基礎的知見に基づいたリスク因子の同定および新たな治療法の開発が強く望まれている。一方、以前より BRONJ をはじめとした顎骨壊死に対する治療法の一つとして、国外では各種レーザーによる低反応レベルレーザー治療 (Low reactive Level Laser Therapy: LLLT) が積極的に行われており、具体的な症状改善などの有用性も多数報告され、総説文献でもシステマティックに検証がなされている (Khan AA, et al.; International Task Force on Osteonecrosis of the Jaw. Diagnosis and management of osteonecrosis of the jaw: a systematic review and international consensus. J Bone Miner Res. 30:3-23, 2015)。我が国では、国内開発された適応となる LLLT レーザーが薬事承認を得ておらず、独自の臨床研究による報告は未だない。前述のポジションペーパーでも、LLLT については「ARONJ の治療と管理」の項目の一文にその他の療法と併記して“低出力レーザー療法”が記載、今後の検討課題とされ、今後国内でも本領域の研究への積極的な取り組みが期待されている。そこで、経験則に基づく治療からの脱却を図り新たな視点からのエビデンス獲得のために、我々はメタボローム解析を取り入れることを着想した。

質量分析装置の発達に伴い、生命の様々な代謝活動により生じた代謝産物の網羅的メタボローム分析に注目が集まっている。最新のメタボローム研究の潮流として、癌以外の炎症性疾患や代謝性疾患などその解析範囲は広がって多彩な知見が得られており、本研究でも ARONJ 特異的バイオマーカーの同定により、LLLT の効果を科学的に評価し、エビデンスに基づく新規の光治療開発を目指した。

## 2. 研究の目的

LLLT はレーザー以外に LED 等の光源も含め「低反応レベル光治療」として認知されつつあることから、LED 光の ARONJ への有効性を見出し、レーザーよりも安価で簡便な LED による新規の ARONJ 治療機器開発へつなげることを目的とした。具体的には、下記のような研究課題を明らかにしていくこととした。

培養口腔内常在菌に対する LED 照射効果の解析

BP 製剤添加ヒト培養口腔上皮細胞と骨髄造血幹細胞株に対する LED 照射効果のメタボローム解析

BRONJ モデルラットを用いた LED 照射効果のメタボローム解析

ARONJ 患者に対する LED 照射効果のメタボローム解析

## 3. 研究の方法

口腔内常在菌の一つである *Streptococcus salivarius* に対し、LED の照射効果を検討した。具体的には BHI 培地に菌液を懸濁し 37、24 時間培養を行い、培養液を希釈した後 96 ウェルプレートへ移し、培養皿底面より 20mm 上方から LED を照射した。今後の臨床応用を踏まえて最適な照射波長条件を検討するため、LED 光は 405、630、950nm の 3 種類の波長でそれぞれに用意した培地に別個に照射を行った。パワー密度は 20mW/cm<sup>2</sup> として 30 分照射で統一した。照射効果の評価は、非照射のコントロール群と各波長での生存細菌数の比較を 12~24 時間毎に行う。各タイムポイントでの細菌培養液は一定量に希釈し 36 時間培養を行い、形成されたコロニー数を生菌数として計測した。

## 4. 研究成果

今回培養常在菌として選択した *Streptococcus salivarius* において、LED 非照射群と比べ 405nm、

630nm、950nm のいずれの波長においても生菌数の減少を有意認めた。検定には Tukey の HSD 検定を用いた。

36h 後の生菌数 (CFU)

405nm  
 no.1 74  
 no.2 66  
 no.3 78  
 no.4 83  
 no.5 75

630nm  
 no.1 101  
 no.2 69  
 no.3 52  
 no.4 94  
 no.5 89

950nm  
 no.1 88  
 no.2 58  
 no.3 82  
 no.4 79  
 no.5 49

対照群  
 no.1 151  
 no.2 170  
 no.3 128  
 no.4 112  
 no.5 99

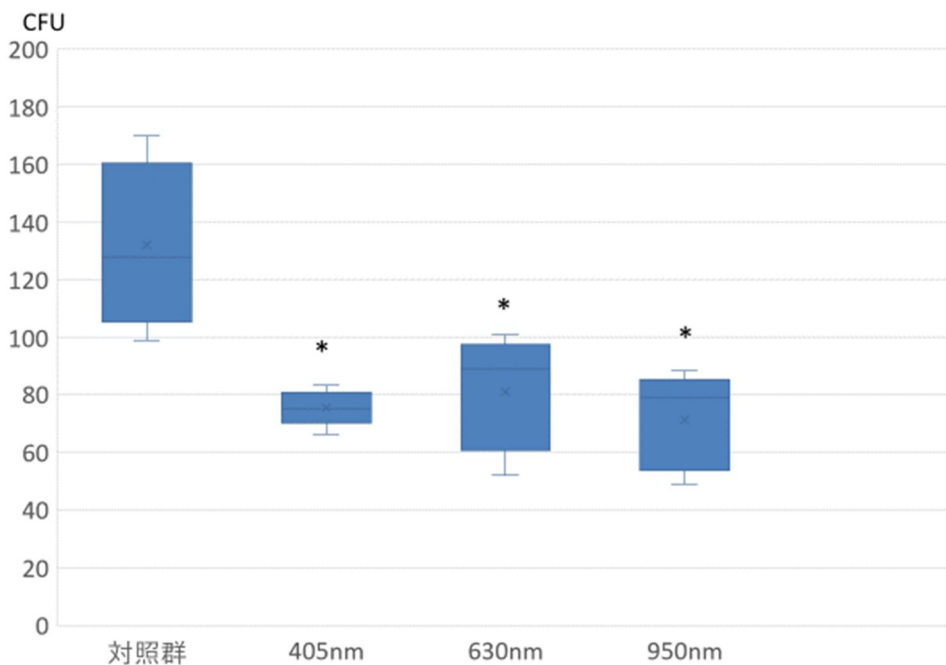


図 36時間後の殺菌効果 \*P<0.05

今後は、本研究の解析目的に当初掲げた細胞・実験動物レベル、そして人での臨床データ蓄積を目指し、さらには治療機器の臨床応用に向けてメタボローム解析との一致性を検討しながら、詳細に研究を行っていきたいと考えている。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Matsumoto K, Matsuo K, Yatagai N, Enomoto Y, Shigeoka M, Hasegawa T, Suzuki H, Komori T	4. 巻 37
2. 論文標題 Clinical Evaluation of CO2 Laser Vaporization Therapy for Oral Lichen Planus: A Single-Arm Intervention Study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Photobiomodulation, Photomedicine, and Laser Surgery	6. 最初と最後の頁 175 ~ 181
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1089/photob.2018.4559	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 Matsuo K, Suzuki H, Yatagai N, Enomoto Y, Kitayama M, Shigeoka M, Kimoto A, Matsumoto K, Komori T	4. 巻 64
2. 論文標題 Red LED Light Is Influenced by IL-6 to Promote the Migration Ability of Oral Squamous Cell Carcinoma Cell Line	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Kobe J Med Sci	6. 最初と最後の頁 210-216
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 オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Enomoto Y, Kimoto A, Suzuki H, Nishiumi S, Yoshida M, Komori T	4. 巻 64
2. 論文標題 Exploring a Novel Screening Method for Patients with Oral Squamous Cell Carcinoma: A plasma Metabolomics Analysis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Kobe J Med Sci	6. 最初と最後の頁 26-35
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 無
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 Sato Marika, Kawase-Koga Yoko, Yamakawa Daiki, Fujii Yasuyuki, Chikazu Daichi	4. 巻 21
2. 論文標題 Bone Regeneration Potential of Human Dental Pulp Stem Cells Derived from Elderly Patients and Osteo-Induced by a Helioxanthin Derivative	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 7731 ~ 7731
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms21207731	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 Akashi Masaya, Matsumoto Kousuke, Takeda Daisuke, Yamashita Junya, Yatagai Nanae, Hashikawa Kazunobu, Komori Takahide	4. 巻 7
2. 論文標題 Dental Rehabilitation for Free Fibula Flap-Reconstructed Mandible with Scar Contracture: A Technical Note	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Dentistry Journal	6. 最初と最後の頁 65 ~ 65
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/dj7030065	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 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 山下淳也, 木本 明, 八谷奈苗, 榎本由依, 明石昌也
2. 発表標題 血漿メタボローム解析による担癌マウスモデルと口腔扁平上皮癌臨床検体の比較検討
3. 学会等名 第65回 日本口腔外科学会総会・学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 明石昌也
2. 発表標題 「ゴールから始める顎再建」: 顎再建 それぞれの患者・それぞれのゴール
3. 学会等名 第65回 日本口腔外科学会総会・学術大会
4. 発表年 2020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	古森 孝英  (Komori Takahide)  (50251294)	神戸大学・医学研究科・名誉教授    (14501)	

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	明石 昌也 (Akashi Masaya) (40597168)	神戸大学・医学研究科・教授  (14501)	
研究分担者	近津 大地 (Chikazu Daichi) (30343122)	東京医科大学・医学部・主任教授  (32645)	
研究分担者	木本 明 (Kimoto Akira) (30597167)	神戸大学・医学部附属病院・助教  (14501)	

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