

令和 5 年 6 月 4 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K10331

研究課題名（和文）血管・リンパ管新生に着眼した歯性感染症 - 顎骨骨髓炎移行メカニズム解明と治療法探索

研究課題名（英文）Elucidation of the mechanisms of transition from odontogenic infection to osteomyelitis of the jaw focusing on angiogenesis and lymphangiogenesis

研究代表者

明石 昌也（Akashi, Masaya）

神戸大学・医学研究科・教授

研究者番号：40597168

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：近年患者数が増加傾向にある顎骨壊死は、新たな治療法開発が期待されている難治性疾患の一つです。適切な治療法の開発には、疾患の発症や増悪の背景機序のさらなる理解が重要です。放射線性顎骨壊死が進展する背景機序について、特に病的血管新生に着目して解析しました。下顎骨半側切除を要した進展例の放射線性顎骨壊死では、顎骨壊死の好発部位である下顎大臼歯部から関節突起へ進展する過程において皮質骨内側を沿って感染が進展する可能性を発見しました。また、病的血管新生に関連している可能性のある新規分子JCADの発現をヒトの組織で初めて確認しました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

顎骨壊死がどのように顎骨内を進展するかは十分理解されていませんでしたが、本研究により下顎では皮質骨内側に沿って感染が進展している可能性が明らかになり、よって今後感染を確実に摘除するためには同部の感染を適切に評価する必要があることが判明しました。また、病的環境下における血管新生に関与している分子の発現をヒトの組織において初めて確認し、今後この分子が感染等の病的環境下における血管・リンパ管新生をヒトの組織において検討する際のマーカーとなりうる可能性を見出しました。

研究成果の概要（英文）：Bacterial infection contributes to pathogenesis of osteonecrosis of the jaws (ONJ). We used a histopathological approach to assess bacterial colonization in the mandibular condyle and elucidate possible paths of bacterial spread towards the mandibular condyle. Macroscopic bone destruction was apparent especially near the medial side of the cortical wall. Bacteria tended to spread posteriorly and through the medial side of the mandibular cortical wall. The potential for bacterial colonization of the mandibular condyle should be considered during treatment of ONJ. We also confirmed the protein possibly associated angiogenesis under the pathological condition, Junctional Cadherin 5 Associated (JCAD), in human tissues. Immunohistochemical analysis of human tissues revealed JCAD localization at the blood endothelial cell-cell junctions. JCAD expression was more evident in microvessels and arteries in areas affected by inflammation. JCAD expression may be affected by pathological conditions.

研究分野：口腔外科

キーワード：骨髓炎 歯性感染症 血管新生 リンパ管新生

1. 研究開始当初の背景

顎骨骨髓炎は様々な素因を有する患者さんに発症する、歯科口腔外科領域における最も難治性の疾患です。近年問題となっている主な素因は、ステロイド等の免疫抑制剤や骨吸収抑制薬の使用、頭頸部癌に対する放射線照射などです。ビスフォスフォネート製剤やデノスマブ等の分子標的薬に代表される骨吸収抑制薬は、骨粗鬆症や乳癌・前立腺癌の骨転移に対し投与され、本邦のガイドライン（顎骨壊死検討委員会ポジションペーパー2016）によれば骨粗鬆症患者における顎骨壊死発症率は0.1%に満たないものの、骨粗鬆症患者数が1280万人おり今もなお増加傾向を維持している我が国の現況（骨粗鬆症の予防と治療ガイドライン2015）に鑑みると、決して看過できる数ではありません。放射線治療は、ヒトパピローマウイルスによって引き起こされる中咽頭扁平上皮癌が放射線高感受性で予後良好なことが2010年に報告されて以来、同疾患の第一選択の治療法となりました。放射線性の顎骨骨髓炎は換言すると、治療技術が進歩し患者さんの予後が大きく改善したことに付随する晩期有害事象であると言えます。今後さらに放射線技術が進歩し、患者さんが安心して治療を受けられるには、深刻な有害事象である放射線性の顎骨骨髓炎の根絶が私たち歯科口腔外科医に課せられた大きな使命であると考えています。

顎骨骨髓炎の原因の多くは歯の感染症（歯性感染症）です。歯性感染症は歯周炎などのことで、大変多くの患者さんが罹患している疾患ですが、上述のステロイド等の免疫抑制剤や骨吸収抑制薬の使用、頭頸部癌に対する放射線照射等の素因がない健常者において顎骨骨髓炎へと移行することはまれです。何故骨粗鬆症薬や放射線照射が歯性感染症を深刻な骨髓炎に移行させるのか？この移行メカニズムを明らかにするためには、感染の進展経路として疑われる歯肉－骨膜、歯髄－骨髄、および骨髄内においてどのような病的変性が起こっているのか？感染がどのような進展経路を辿っているのか？をまず明らかにする必要があります。その変性の指標として、本研究では血管・リンパ管新生に注目し研究を行いました。

2. 研究の目的

骨吸収抑制薬関連性や放射線性の顎骨骨髓炎を適切に治療するためには、病変がどのように進展しているのかを理解することは重要と考えます。また、正常な状態と病的な環境下における血管やリンパ管の変化を検知できれば、感染の進展をより正確に診断できる可能性があります。そこで本研究は、①放射線性の顎骨骨髓炎において病変がどのように顎骨内を進展しているのかを明らかにすること、また②病的環境下における血管新生に関連する分子のヒト組織における発現を明らかにすることを目的としました。

3. 研究の方法

- ① 進行下顎放射線性顎骨壊死に対し下顎骨半側切除を施行された4名の患者さんを対象とし、切除した骨標本をもとに病理組織学的評価と細菌検査を施行しました。

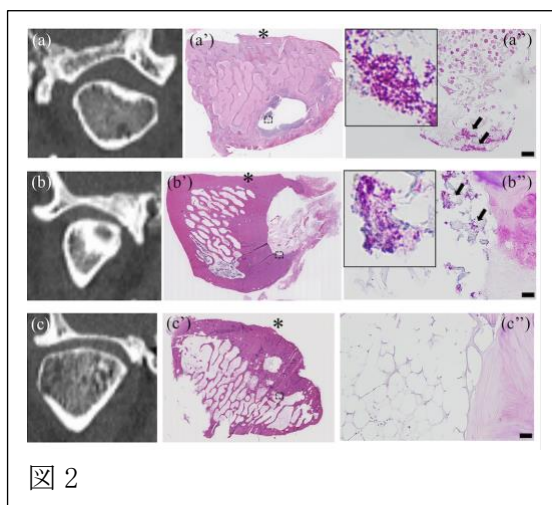
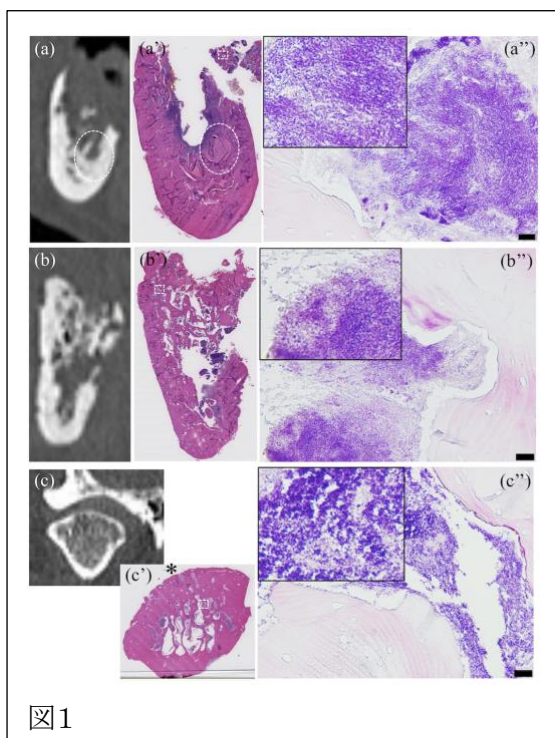
- ② 病的血管新生関連分子の発現を確認するための研究では、顎下腺炎や放射線性顎骨壊死の治療目的で手術により摘出された顎下腺を病理組織学的に評価しました。

4. 研究成果

- ① 進行下顎放射線性顎骨壊死に対する下顎骨半側切除骨標本において、4 症例すべてにおいて 下顎骨下縁付近の皮質骨内側に顕著な骨破壊 を認めました。

図 1: 術前の CT 画像とヘマトキシリン・エオジン染色結果およびグラム染色(細菌検査)結果を比較した所、下顎骨体部(a')と下顎枝部(b')に重度の骨破壊と炎症を認め、明らかな細菌コロニー形成も認められました(a'', b'')。下顎頭(顎関節)部では骨髄の空洞化と炎症性細胞の浸潤(c')、および細菌のコロニー形成(c'')を認めました。*: 下顎頭関節面を示す。スケールバー=20 μm。

図 2: 3 名の患者さんの下顎頭の術前 CT 画像(a-c)およびヘマトキシリン・エオジン染色結果(a'-c')。黒枠で示した部分のグラム染色結果を拡大画像で示しています(a''-c'')。(a)では、骨髄の一部が空洞化した領域で、炎症性細胞の浸潤(a')と細菌の定着(a'')が見られ、(b)では、皮質の空洞部において、線維化(b)および細菌の定着(b'')が認められました。(c)では、骨髄の線維化と脂肪変性が認められましたが(c')、細菌のコロニー形成は認められませんでした(c'')。*: 下顎頭関節面を示す。スケールバー=20 μm。



- ② 病的血管新生関連分子の発現を確認するための研究では血管において CD31 (確立した血管マーカー) の発現が容易に検出されましたが(図 3B)、病的血管新生関連分子 JCAD のシグナルは低倍率で観察すると比較的弱いものでした(図 3C)。しかし、高倍率で観察すると、血管内皮細胞間接着部で JCAD の発現が確認され、炎症がある部分の微小血管において JCAD の発現が非炎症部

に比べ強い可能性が示唆されました(図 3C')。血液内皮細胞間接着部における JCAD と CD31 の共局在を、蛍光二重免疫染色でも確認しました(図 4)。

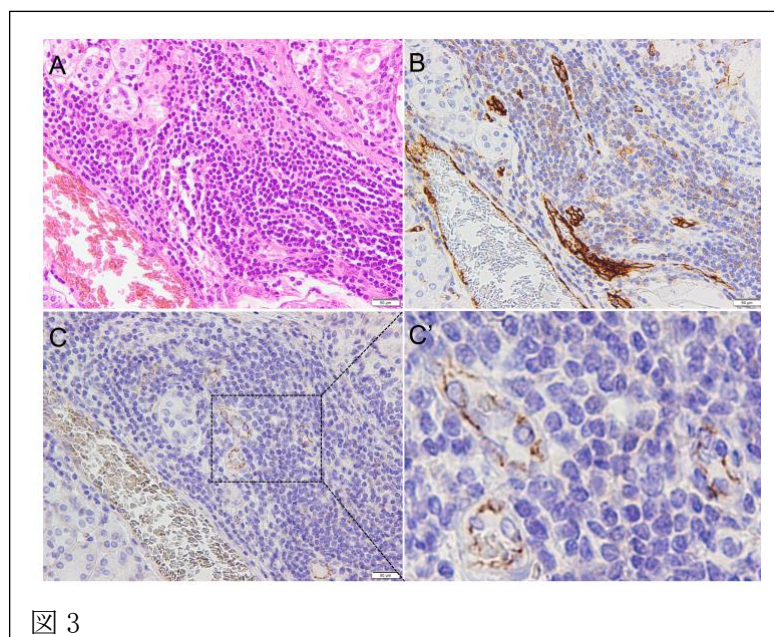


図 3

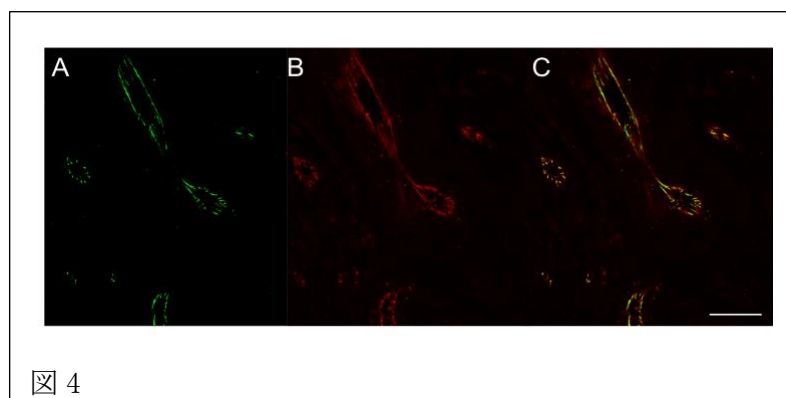


図 4

顎骨壊死がどのように顎骨内を進展するかは十分理解されていませんでしたが、本研究により下顎では皮質骨内側に沿って感染が進展している可能性が明らかになりました。また、病的環境下における血管新生関連分子 JCAD の発現をヒトの組織において初めて確認し、今後この分子が感染等の病的環境下における血管・リンパ管新生をヒトの組織において検討する際のマーカーとなりうる可能性を見出しました。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Takeda Daisuke, Hashikawa Kazunobu, Shigeoka Manabu, Kanzawa Maki, Yatagai Nanae, Arimoto Satomi, Kusumoto Junya, Hasegawa Takumi, Terashi Hiroto, Akashi Masaya	4. 巻 2021
2. 論文標題 Bacterial Colonization of the Condyle in Patients with Advanced Mandibular Osteoradionecrosis: Analysis of Hemimandibulectomy Specimens	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Dentistry	6. 最初と最後の頁 1~8
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1155/2021/9998397	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 Shigeoka M, Arimoto S, Akashi M.	4. 巻 6
2. 論文標題 JCAD expression and localization in human blood endothelial cells.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Heliyon.	6. 最初と最後の頁 e05121
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.heliyon.2020.e05121.	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
研究分担者	木本 明 (Akira Kimoto) (30597167)	神戸大学・医学部附属病院・講師 (14501)	
研究分担者	長谷川 巧実 (Takumi Hasegawa) (50546497)	神戸大学・医学部附属病院・助教 (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	筧 康正 (Yasumasa Kakei) (70772896)	神戸大学・医学部附属病院・特命講師 (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