

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K10098

研究課題名（和文）血管新生誘導マイクロ粒子の応用とWntを標的とした薬剤関連顎骨壊死の新規治療戦略

研究課題名（英文）New therapeutic strategies for MRONJ, targeting angiogenesis-inducing microparticles applications and Wnt

研究代表者

岐部 俊郎（Kibe, Toshiro）

鹿児島大学・医歯学域歯学系・助教

研究者番号：50635480

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、MRONJ治療戦略の新たな知見と治療法の開発を目的として、研究を行なった。HxAlGlnを用いた創傷治癒における動物実験のデータをまとめ、論文投稿を行い国際誌に掲載された。（Koga T, Kibe T, et.al. Oral Science International 2020）生体材料については、オクタリン酸カルシウムコラーゲン複合体を骨芽細胞株へ適応したところ、種々の骨分化因子の著明な発現、石灰化の亢進を確認された。また、臨床データについては国際誌へ投稿し、掲載された。（Kibe T, et.al. J Oral Maxillofac Surg 2021）

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、MRONJ治療戦略を検討する上で、骨形成と軟組織による生体バリアの回復に重要な血管新生を着眼点と考え、これらに関与するシグナルの解析を行うことで、MRONJ治療戦略における新たな知見獲得を目指した。今回用いた生体材料は、顎骨壊死などの骨欠損に対する治療効果に対して有用である可能性が示唆された。そのため、人工材料を顎骨壊死治療に用いる治療戦略においては、社会的意義があると考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this study, research was conducted to gain new insights into MRONJ treatment strategies and to develop a treatment regimen. animal experimental data on wound healing using HxAlGln were compiled and submitted for publication in an international journal. (Koga T, Kibe T, et.al. Oral Science International 2020) As for biomaterials, when calcium octalate collagen complex was applied to osteoblast cell lines, significant expression of various bone differentiation factors and enhancement of calcification were observed. The clinical data were submitted to an international journal and published. (Kibe T, et.al. J Oral Maxillofac Surg 2021)

研究分野：口腔外科

キーワード：顎骨壊死 血管新生 人工材料 生体材料 骨新生

1. 研究開始当初の背景

薬剤関連顎骨壊死 (Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw, 以下、MRONJ) は骨転移を有するがん患者や骨粗鬆症患者の治療に使用される薬剤などにより発症する難治性の顎骨壊死で、近年急速に増加している。MRONJ の機序は破骨細胞の抑制だけでなく、血管新生の障害も一因であるとの報告もあるが未解明の点が多い。

MRONJ の報告は 2003 年より始まり、2006-2008 年の調査では 263 例、2011-2013 年の調査では 4,797 例が報告され、近年急速に増加している。しかし、発症メカニズムは不明な点が多く、科学的根拠に基づいた予防・治療法は未だに確立されていない。MRONJ の発症機序としては、骨吸収抑制剤などによる骨代謝抑制作用、免疫抑制作用、上皮組織成長抑制、血管新生抑制が要因となり、易感染状態となった顎骨に細菌感染が起こり発症すると考えられている。(Yoneda, 2010, J Bone Miner Metab)つまり、骨と周囲組織の血管新生の障害が契機となり、骨リモデリングの抑制、組織免疫力の低下や軟組織の治癒遅延によって MRONJ が発症する可能性があり、血管新生障害の改善は MRONJ の予防や治療において、重要な着眼点になるのではないかと考えている。

近年、創部における血管新生促進や血管の成熟には Wnt シグナルが関連すると報告されている。(Hubner K, et.al. 2018, Nature Communications) Wnt は分子量約 4 万の分泌蛋白質で、分泌されると周囲の細胞の受容体 Frizzled や LRP と結合してシグナル伝達が起こり、CyclinD や MMP などの標的遺伝子の発現や細胞の形態や運動制御などに関わり、様々な細胞応答を起こす。この Wnt シグナルが血管内皮細胞の脈管形成や接着分子である VE-カドヘリンの制御と血管新生を成熟、安定化させる役割を担っている。申請者はこれまでに上皮細胞や間葉系細胞に対する Wnt シグナルの作用を細胞生物学的に解析し、骨のリモデリングにも関与することを報告してきた。(Kibe et.al. 2013, Fuchigami, Kibe et.al. 2014) さらに近年、血管新生と骨形成の関係性が報告され、骨形成の促進にはその段階に応じた血管新生が不可欠であるとされている。(Anjali P et.al. 2014, Nature) そこで申請者は、MRONJ における骨再生には血管新生の促進と血管の安定化が重要で、Wnt シグナルが関連している可能性が高いと考え、Wnt シグナルを介した血管新生による血流の改善が MRONJ 治療戦略の鍵となると考えた。MRONJ 発生の契機は抜歯創からの感染が最も多く、口腔上皮などの生体バリアの欠損により、顎骨への細菌感染が起こる。したがって、この生体バリアの早期回復が、MRONJ の予防と治療戦略に重要であると考えられる。これまでに、申請者は NIMS と研究協力体制を構築し、生体の血管内皮細胞や線維芽細胞などから分泌される内因性の VEGF などの成長因子を吸着・徐放し血管新生を誘導する疎水化ゼラチン由来の生体接着膜(HxAIGItn)を研究分担者・田口らが開発した(Taguchi et.al. 2015) 申請者は動物実験モデルを用いて、HxAIGItn が創傷治癒へ与える影響を解析したところ、創部組織の血管新生が促進され早期に良好な治癒を示すことを見だし、創部における血管新生誘導動物実験モデルを作成した。(Kibe et.al. 2020) 現在、HxAIGItn はさらに改良が進められ、マイクロ粒子化されたことで、細胞実験や抜歯創などへの応用可能な状態となっている。(Taguchi et.al. 2019) つまり、MRONJ の発症予防や治療では、抜歯創や術後の骨露出部の血流豊富な軟組織を再生させ早期に生体バリアを回復させることが重要と考え、そのコンセプトを応用した治療法の確立への準備を進めてきた。

2. 研究の目的

本研究では、MRONJ 治療戦略の新たな知見と治療法の開発のため、HxAIGItn や骨新生を促す生体材料を応用して MRONJ 治療に関連する知見を得ることを目的として、細胞・動物実験を実施した。

3. 研究の方法

(1)HxAIGItn が生体組織で血管新生に与える影響の解析。ラット背部に創部を作成し、HxAIGItn を創部に適応して、血管新生がコントロール群(創部のみ)と比較してどれくらい変化するかを確認。

(2)ラット創部に認められた新生血管の大きさを比較した。

(3)MT3T3-E1 細胞を用いて、オクタリン酸カルシウム・コラーゲン複合体がどのように骨分化シグナルに影響を及ぼすかを評価した。

4. 研究成果

(1)HxAIGItn はコントロール群と比較し、血管新生が促進された。また、周囲の軟組織治癒は正常組織に近似した上皮の厚みやコラーゲンタイプ 1 の発現が認められた。

(2)HxAIGItn はコントロール群と比較し、新生血管は有意に大きいものが認められた。

(3)オクタリン酸カルシウム・コラーゲン複合体から溶出した培地中の成分が骨芽細胞の骨形成転写因子(Osterix, Runx2, ALP, OCN)発現を誘導することで、骨分化を促進している可能性が示唆された。

本研究では、MRONJ 治療戦略の新たな知見と治療法の開発のため、HxAlGltn や骨新生を促す生体材料を応用して MRONJ 治療に関連する知見を得ることを目的として、細胞・動物実験を実施し、血管新生の促進・成熟が骨形成や周囲の細胞へ与える影響を解析するとした。まず、HxAlGltn を用いた創傷治癒における動物実験のデータをまとめ、論文投稿を行い国際誌に掲載された。(Koga T, Kibe T, et.al. Oral Science International 2020)

生体材料については、臨床実績のあるオクタリン酸カルシウムコラーゲン複合体を骨芽細胞株へ適応したところ、骨形成転写因子である Osterix と Runx2 および、Ⅰ型コラーゲン、ALP、OPN、OCN などの骨分化マーカー全般の著明な発現、石灰化の亢進を確認されたため、この結果をまとめ第 66 回日本口腔外科学会総会・学術大会にて学会発表を行った。この結果については、今後国際誌に投稿予定である。また、オクタリン酸カルシウムの臨床データについては国際誌へ投稿し、掲載された。(Kibe T, et.al. J Oral Maxillofac Surg 2021)

【研究計画の一部修正について】

コロナウイルス感染拡大防止の観点から、動物実験の継続的な確保が困難となったため、これまでの研究計画を一部修正し、MRONJ 治療において今後応用が期待される生体材料である、HxAlGltn とオクタリン酸カルシウムコラーゲン複合体や炭酸アパタイトの素材について、細胞生物学的検討を進めるとともに、骨芽細胞における Wnt 分子の発現の基礎的解析を実施することとなった。

【業績】

成 昌典, 岐部俊郎, 石畑清秀, 多田亮平, 本庄希江, Fredy Mardiyantoro, 中村典史: In vitro における骨再生誘導材 OCP/Collagen の骨分化誘導メカニズムの解析, 第 66 回日本口腔外科学会総会・学術大会, 2021/11/12-14, 幕張.

Toshiro Kibe, Aya Maeda-Iino, Tetsu Takahashi, Shinji Kamakura, Osamu Suzuki, *Norifumi Nakamura, A follow-up study on the clinical outcomes of alveolar reconstruction using octacalcium phosphate granules and atelocollagen complex. J Oral and Maxillofac. Surg., Vol.79(12), P2462-2471, 2021 <https://doi.org/10.1016/j.joms.2021.09.017>

Takashi Koga, *Toshiro Kibe, Tetsushi Taguchi, Takao Fuchigami, Kazuhide Nishihara, Kiyohide Ishihata, Norifumi Nakamura, Evaluation of the wound healing process in rat skin using a hexanoyl group modified alkaline treated gelatin porous film. Oral Science International, Vol.18 (1) , 40-49, 2020, DOI:10.1002/osi2.1077

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件／うち国際共著 3件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Toshiro Kibe, Aya Maeda-Iino, Tetsu Takahashi, Shinji Kamakura, Osamu Suzuki, Norifumi Nakamura	4. 巻 79
2. 論文標題 A follow-up study on the clinical outcomes of alveolar reconstruction using octacalcium phosphate granules and atelocollagen complex.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Oral and Maxillofac. Surg	6. 最初と最後の頁 2462-2471
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.joms.2021.09.017	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 Elissa Chairani, Takao Fuchigami, Hirofumi Koyama, Yusuke Ono, Mikio Iijima, Michiko Kishida, Toshiro Kibe, Norifumi Nakamura, Shosei Kishida	4. 巻 30
2. 論文標題 Intercellular signaling between ameloblastoma and osteoblasts	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemistry and Biophysics Reports	6. 最初と最後の頁 101233
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrep.2022.101233	査読の有無 有
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 Yamashita K, Kibe T, Shidou R, Kohjitani A, Nakamura N, Sugimura M	4. 巻 78
2. 論文標題 Difference in the effects of lidocaine with epinephrine and prilocaine with felypressin on the autonomic nervous system during extraction of the impacted mandibular third molar: A randomized controlled trial.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Oral Maxillofac. Surg.	6. 最初と最後の頁 215.e1-215.e8
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 オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Yamashita K, Kibe T, Aoyama K, Ohno S, Kohjitani A, Sugimura M	4. 巻 78
2. 論文標題 The State Anxiety Inventory Is Useful for Predicting the Autonomic Nervous System State of Patients Before the Extraction of an Impacted Mandibular Third Molar.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Oral Maxillofac. Surg.	6. 最初と最後の頁 538-544
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 オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Koga T, Kibe T, Taguchi T, Fuchigami T, Nishihara K, Ishihata K, Nakamura N	4. 巻 17
2. 論文標題 Evaluation of the wound healing process in rat skin wound model dressed with hexanoy group-modified alkaline-treated gelatin porous film in comparison to collagen sponge.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Oral Sci. Int.	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/osi2.1077	査読の有無 有
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 該当する

〔学会発表〕 計1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 成昌奥、岐部俊郎、石畑清秀、多田亮平、本庄希江、Fredy Mardiyantoro、中村典史
2. 発表標題 In vitroにおける骨再生誘導材OCP/Collagenの骨分化誘導メカニズムの解析
3. 学会等名 第66回 日本口腔外科学会総会・学術大会
4. 発表年 2021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	淵上 貴央 (Fuchigami Takao) (40772439)	鹿児島大学・歯学部鹿児島大学病院・助教 (17701)	
研究分担者	岸田 昭世 (Kishida Shosei) (50274064)	鹿児島大学・歯学部医学系・教授 (17701)	
研究分担者	中村 典史 (Nakamura Norifumi) (60217875)	鹿児島大学・歯学部歯学系・教授 (17701)	

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	田口 哲志 (Taguchi Tetsushi) (70354264)	国立研究開発法人物質・材料研究機構・機能性材料研究拠点・グループリーダー (82108)	

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