

令和 6 年 6 月 20 日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K10143

研究課題名(和文) 高機能細胞治療薬E-MNCを用いた放射線性顎骨壊死の治療法の確立

研究課題名(英文) Treatment procedure of osteoradionecrosis of the jaw by E-MNC

研究代表者

大場 誠悟 (Ohba, Seigo)

昭和大学・歯学部・准教授

研究者番号：80363456

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)：放射線性顎骨壊死モデル(ORNJ)の策定のため、ガンマ線照射と同時に露髄させた。5Gyx6回(合計30Gy)照射群で、マウスは全例照射後8週間の屠殺時まで生存した。顎骨内に骨細胞の存在しない lacunaがこれまでより多く確認された。また、骨シンチの所見でも軽度の炎症所見が確認された。高機能細胞(E-MNC)治療薬の策定；E-MNCはヘテロな細胞集団であり、細胞培養前後のM1/M2マクロファージの含有率を検討した。M1/M2の比率は、培養前で13.1、培養後では1.6であった。採取した細胞を尾静脈から投与したものの、局所所見に明確な変化は認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ORNJは、放射線治療後の極めて難治性の有害事象であり、治療法の主体は腐骨除去である。傷害された顎骨が広範囲に及ぶ場合には、切除いくが大きくなり、患者のQOLを大きく損なうことになる。早期に正常な骨組織から傷害を受けて腐骨化した骨を分離して排出させることが可能になれば患者のQOLは大きく改善することになる。ORNJモデルの作出を報告した論文はマウスを用いた1編のみで、わずかに空胞骨小腔が増加した状態のものをORNJとしている。本研究では、組織学的所見のみではなく、マイクロCTや骨シンチを用いた画像学的所見を含めてORNJモデルを策定し、今後ORNJ研究分野に貢献できるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：To formulate a model of radiation-induced osteonecrosis of the jaw (ORNJ), mice were exposed to gamma irradiation and myelinated simultaneously. 5 Gy x 6 times (total 30 Gy) were exposed to the mice and all mice in the irradiated group survived until 8 weeks post-irradiation when they were sacrificed. More osteocyte-free lacunae were observed in the jawbone than ever before in which total 12Gy and 20Gy irradiation were exposed. Bone scintigraphy also showed mild inflammation at the lower jaw bone. Formulation of effectively conditioned mononuclear cells (E-MNC) therapeutics; E-MNCs are a heterogeneous cell population, and the content of M1/M2 macrophages was examined before and after cell culture; the ratio of M1/M2 was 13.1 before culture and 1.6 after culture. The collected cells were administered through the tail vein, but no clear change in local findings was observed.

Translated with DeepL.com (free version)

研究分野：口腔外科

キーワード：放射線性顎骨壊死 組織再生 細胞治療

1 . 研究開始当初の背景

放射線性顎骨壊死(ORNJ)は、放射線治療後の極めて難治性の有害事象である。ORNJの治療方法の開発はほとんど進んでいないと言って過言ではなく、従来よりORNJの治療法の主体は腐骨除去であるが、再燃の可能性が低くなく、また傷害された顎骨が広範囲に及ぶ場合には、顎骨を大きく切除することが必要になってくる。そのため、患者のQOLを大きく損なうことになる。したがって、早期に正常な骨組織から傷害を受けて腐骨化した骨を分離して排出させることができれば、患者のQOLは大きく改善することになる。

組織障害を受けた臓器の治療方法として細胞を用いた治療方法の研究は現在著しく発展してきている。我々が開発した、免疫寛容作用および血管新生作用を有し、これにより組織再生を誘導することが期待できる高機能細胞(effectively conditioned mononuclear cells; E-MNC)は、これまでに放射線障害性唾液腺の再生の可能性を見出している。

2 . 研究の目的

本研究の目的は下記のとおりである。

ORNJモデルの作出。これまでORNJモデルの作出を報告した論文はマ

ウスを用いた 1 編のみであった。これも骨小腔が空洞になったものをカウントし、わずかに空骨小腔が増加した状態のものを ORNJ としている。本研究では、組織学的所見のみではなく、マイクロ CT や骨シンチを用いた画像学的所見を含めて ORNJ モデルを作出する。

ORNJ モデルの治療に有効と考えられる E-MNC の抽出。これまで行ってきた E-MNC はヘテロな細胞群であり、T 細胞は Th2 優位な状態へとシフトさせている。これにより免疫寛容、抗炎症、血管新生作用を有するが、ORNJ 治療に関しては、ある程度の炎症反応を誘導し腐骨分離を惹起する必要があると考えられる。そのため、T 細胞は Th1/Th17 優位である方が好ましいと考えられる。さまざまな培養条件により、ORNJ の治療に適した条件を明らかにすることとした。

3 . 研究の方法

ORNJ モデルの作出：過去の報告および自家の経験を参考にして、種々の条件のガンマ線を照射したところ、12Gy/回以下では全例生存し、15Gy/回以上ではほぼ全て、18Gy/回以上では全て死滅することが明らかになった。そこで 1 回最大照射量を 12Gy とし、総照射量をさまざまな条件に設定した。また、商社と同時に露髄処置を行い、ORNJ 発症を

促すようにした。ORNJ の診断は組織学的所見を中心にし、これに加えて画像評価のため、マイクロ CT および骨シンチの撮影を行った。

これまで確立してきた E-MNC の策定には特定の培養条件で 5 日間培養を行ってきた。この条件で Th1/Th2 の比率が組織再生には最適であると判断した。ORNJ では腐骨分離を早期に惹起することを目的としているため、軽度の炎症作用は残存した方が良いとの観点から Th1 優位の細胞群にシフトした方が良いと考え、培養期間を 5 日より短く設定し検討した。

4 . 研究成果

ガンマ線(12Gy/回)照射と同時に露髄した群では、マイク CT 所見上で該当歯の周囲骨の骨梁に変化が認められた。しかしながら、骨シンチ所見では明らかな炎症初見は確認できず。組織学的にも腐骨の存在は明確ではなかった。照射方法を 10Gyx2 回(合計 20Gy)、5Gyx6 回(合計 30Gy)に変更し総照射量を増加させた。その結果、5Gyx6 回(毎週)の照射後 8 週間で、顎骨内に骨細胞の存在しない lacuna の存在が確認された。この条件でもマウスは体重を増加させ、全例で照射終了後 8 週まで生存していた。骨シンチ所見でも軽度の骨髄炎様所見が確認できた。

E-MNC の作出：同系統のマウスの末梢血から E-MNC を抽出した。E-

MNC へはヘテロな細胞手段であり、細胞培養前後の M1/M2 マクロファージの含有率を検討した。M1 マクロファージ (CD11b+/CD206-) は、培養までは 14.1%であったものが、培養後では 7.7 へと減少していた。一方、M2 マクロファージ (CD11b+/CD206+) は、培養前の 1.1%から培養後では 5.1%と増加していた。M1/M2 比は培養操作により 13.1 から 1.6 に変化していた。CD3+細胞は培養前で 26.7%であり、培養後は 55.0%であった。採取した細胞を尾静脈から投与したものの、局所所見に明確な変化は認められなかった。細胞数、培養条件、投与方法の再検討が必要であると考えられた。

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
研究分担者	住田 吉慶 (Sumita Yoshinori) (50456654)	長崎大学・医歯薬学総合研究科(歯学系)・教授 (17301)	

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