

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年3月31日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21390529

研究課題名（和文）

ビスホスホネートによる顎骨壊死：発症機序・予防・治療に関する研究

研究課題名（英文）

Bisphosphonate-induced jawbone necrosis: studies for its mechanism, prevention, and treatment

研究代表者

遠藤 康男 (Endo Yasuo)

東北大学・大学院歯学研究科・大学院非常勤講師

研究者番号：50005039

研究成果の概要（和文）：Bisphosphonates (BPs)は広く応用されている骨吸収抑制薬であり、窒素を分子内に持つ BPs (NBPs)は、窒素の無い BPs (non-NBPs)よりも遥かに強力である。しかし、NBPsは顎骨壊死などの炎症壊死の副作用をもつ。私達は“Non-NBPsのetidronateとclodronateにそのような副作用はなく、それどころか、NBPsの副作用を予防・抑制する”ことを発見した。本研究期間において、NBPsの副作用とnon-NBPsの予防・治療効果の機序および両者併用の骨への効果について多くの知見を得た。さらに、non-NBPsは強力な鎮痛効果 (NBPsには無く骨吸収抑制作用とは関連しない)を持つことも確認した。これらの成果に基づき私達は以下を提案する。(i) EtidronateをNBP代用薬、clodronateをNBP併用薬とする。(ii)骨粗鬆症に対する安全な骨吸収抑制薬としてnon-NBPsを再評価する。

研究成果の概要（英文）：Bisphosphonates (BPs) are widely used as anti-bone-resorptive drugs, and nitrogen-containing BPs (NBPs) are much more powerful than non-nitrogen-containing BPs (non-NBPs). However, NBPs have inflammatory and necrotic side effects including jawbone necrosis. We have discovered that the non-NBPs etidronate and clodronate lack such side effects. On the contrary, they can prevent or reduce the NBPs' side effects. During the period of this project, we could accumulate many findings concerning the mechanisms underlying the NBPs' side effects and non-NBPs' protective effects and the effects of their combination on bone. In addition, we noted that the non-NBPs have a potent analgesic effect (lacked in NBPs and independent of their anti-bone-resorptive effects). Based on these findings, we propose that (i) etidronate and clodronate can be used as a substitution drug to NBPs and a combination drug with an NBP, respectively, and (ii) they warrant reappraisal as safe drugs for osteoporosis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	5,900,000	1,770,000	7,670,000
2010年度	3,000,000	900,000	3,900,000
2011年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
年度			
年度			
総計	12,400,000	3,720,000	16,120,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：ビスホスホネート、顎骨壊死、骨吸収抑制薬、炎症、壊死、薬物副作用

1. 研究開始当初の背景

Bisphosphonates (BPs) の多くは認可まもない骨吸収抑制薬である。BPs はピロリン酸の P-O-P 構造を P-C-P にした化合物である。C に結合する側鎖に窒素をもつ BPs (NBPs) は、窒素のない BPs (non-NBPs) よりも遥かに作用が強い。NBPs の強い骨吸収抑制作用は、骨粗鬆症、骨転移性の腫瘍、多発性骨髄腫、骨形成不全など、世界中ですでに 2 億人に投与されている。副作用として発熱などの炎症が知られていたが、これに加えて最近、顎骨壊死・露出というショッキングな副作用が続発し、症例は 2004 年で数十人、2005 年は数百人、2006 年で数千人に達し、現在も増加している。注目すべきは『顎骨壊死は NBPs により発症し、non-NBPs での発症例はほぼ皆無である』という事実である。顎骨壊死の大部分は、NBPs が点滴投与される骨転移性腫瘍や多発性骨髄腫の患者であるが、錠剤を服用する骨粗鬆症患者でも発症が、加速的に増加している。BPs は骨ハイドロキシアパタイトに強く結合し、反復投与で“骨に累積”するが、この事実にあまり注意は向けられていない。従って NBPs 投与が現状のまま続けば、今後、数万人、数十万人の発症が危惧される。この顎骨壊死は NBPs の投与中止後でも発症し進行すると言われている。日本での顎骨壊死の確認は百人ほどだが、これは NBPs の認可が欧米より遅く、NBPs の蓄積が少ないためと思われる。今後は長期服用の累積により、骨粗鬆症患者にも多数の顎骨壊死が起る懸念がある。壊死が顎骨で起る理由は不明だが、抜歯や細菌の関与が想定されている。私達の東北大学歯学部病院でも乳癌 4 名と骨粗鬆症 10 名に NBPs による顎骨壊死が確認されている。構造が単純な NBPs が炎症作用をもつことに私は強く興味をもち、十数年来、マウスを使った研究で以下を明らかにしてきた。

- (1) 細菌成分の LPS と NBPs は互いに炎症作用を増強し合う。
- (2) サイトカインの IL-1 と TNF が NBPs の炎症作用に関与する。
- (3) Non-NBP の clodronate (Clo) に炎症作用は無く、むしろ抗炎症的である。
- (4) Clo は NBPs の炎症作用を抑制するが、骨吸収抑制作用には影響しない。
- (5) マウス耳介に NBP を注射すると耳介に壊死が起り、この壊死を LPS は増強し、Clo この壊死を予防する。
- (6) Etidronate (Eti, 日本で使用されている唯一の non-NBP) も NBP の炎症・壊死作用を抑制する。Eti は NBPs の骨への結合も抑制し、興味深いことに、すでに骨に

蓄積した NBP と置き換わり NBP を除去する。

2. 研究の目的

上記をふまえ本研究では以下を目的とする。

- (1) NBPs による顎骨壊死の機序の解明。
- (2) NBPs の炎症・壊死作用に対する non-NBPs の効果の解析
- (3) 顎骨壊死の治療と骨吸収抑制をめざす“etidronate の NBP 代用薬” “Clo の NBP 併用薬”としての応用の検討。

3. 研究の方法

- (1) NBPs による顎骨壊死の機序の解明
 - ① マウス耳介への NBPs 投与で誘導される炎症壊死作用を指標に菌体成分や薬物の効果を検討
 - ② 細胞レベル (in vitro) での検討
- (2) NBPs の炎症・壊死作用に対する non-NBPs の効果の解析
 - ① 上記耳介実験系を用いた NBPs による炎症壊死作用に対する non-NBPs の効果の検討
 - ② 細胞レベル (in vitro) での検討
 - ③ BPs のマウスへの全身投与の効果の解析 (サイトカイン, 発熱など)
 - ④ 上記の耳介の実験系を用いて NBPs の transporter を介する細胞内取り込みに関する検討
 - ・ isotope 標識 BPs を使った検討
 - ・ transporter 関連物質の効果を検討
- (3) “Eti の NBP 代用薬” “Clo の NBP 併用薬”としての応用の検討
 - ① NBP と Eti または Clo との併用の骨への作用を以下の方法で検討
 - ・ マウス脛骨に生じる高骨密度 (BP-band と呼称) を指標にした検討
 - ・ マウスでの骨シンチグラフィによる検討
 - ② 患者と主治医の同意 (informed consent) のもとで、顎骨壊死患者への Eti の代用投与を行なう。

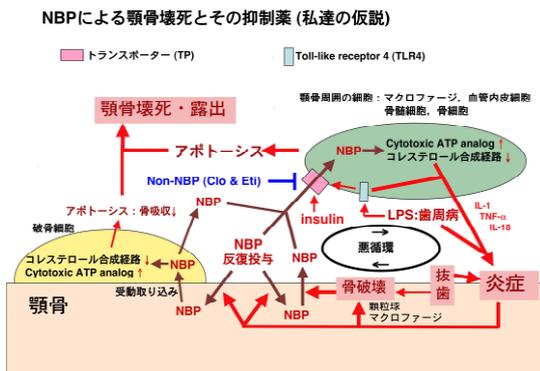
4. 研究成果

申請前に得た知見の別の実験による確認も含めて、これまでに得た研究成果をまとめた。

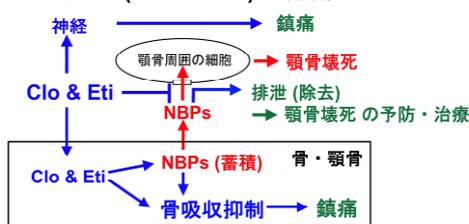
- (1) BPs のうち、NBPs は多彩な炎症作用を有し、non-NBPs に炎症作用はない (論文 5)。
- (2) リウマチ関節炎モデルで、NBPs は破骨細胞を抑制するにもかかわらず、関節炎を悪化し、顆粒球系細胞による骨破壊が起る。
- (3) 細菌成分の LPS と NBPs は互いに炎症作用を増強し合う (学会発表)。
- (4) 炎症性サイトカインの IL-1 と TNF は NBPs

の炎症作用に関与し、これらのサイトカインと NBP も互いに炎症作用を増強する (学会発表)。

- (5) マウスの臼歯を抜歯すると、顎骨に NBP が集中的に集積する (学会発表)。
- (6) Non-NBP の Clo と Eti は NBP の炎症作用を強く抑制する (論文 3 & 5)。
- (7) マウス耳介に NBP を注射すると耳介に壊死が起こり、この壊死も LPS は増強し、Clo と Eti は抑制する (学会発表, 論文 3 & 5)。
- (8) Clo は NBP の骨吸収抑制作用に対してはほとんど影響しない (論文 5)。
- (9) Eti は、骨への結合で NBP と拮抗し、すでに骨に蓄積した NBP と置換し、NBP を除去する (論文 3)。
- (10) 顎骨壊死の初期段階(露出なし)の骨粗鬆症患者 2 名で、NBP を Eti に切り替え、良好な治療成績を得ている (論文 4)。
- (11) NBP はマクロファージを刺激して pro-IL-1β の産生を誘導する (論文 2)。
- (12) NBP には金属アレルギーの成立促進作用もある (論文 1)。
- (13) NBP はトランスポーターを介して細胞内に侵入し、non-NBP の Eti と Clo はこれを抑制する (学会発表, 論文作成中)



Clo と Eti (non-NBPs) の応用



Eti と Clo は、NBP の代用薬、NBP との併用薬、としての応用に加えて、それ自身が、総合評価 A の安全な骨粗鬆症治療薬としても評価できるのではないかと

- (14) Non-NBP の Eti と Clo は NBP にはない強い鎮痛作用をもち、この作用は骨吸収抑制作用とは関連せず、神経への直接作用が示唆 (学会発表, 論文作成中)。
- (15) 顎骨壊死患者での NBP の Eti への切り替え症例が 5 例になり、前例で良好な結果

を得る (学会発表)。

上記の研究成果に基づいた NBP による顎骨壊死, non-NBP による予防・治療効果の機序に関する仮説, および non-NBP 応用の再評価に関する根拠を図に示した。

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 5 件) (全て査読有り)

1. Nickel allergy-promoting effects of microbial or inflammatory substances at the sensitization step in mice. Harue Takahashi, Masayuki Kinbara, Naoki Sato, Keiichi Sasaki, Shunji Sugawara, Yasuo Endo. International Immunopharmacol 2011;11:1534-1540.
2. Pro-IL-1β accumulation in macrophages by alendronate and its prevention by clodronate. Yosuke Shikama, Yasuhiro Nagai, Satoru Okada, Takefumi Oizumi, Hidetoshi Shimauchi, Shunji Sugawara, Yasuo Endo. Toxicol Lett 2010;199:123-128.
3. Inhibition of necrotic actions of nitrogen-containing bisphosphonates (NBP) and their elimination from bone by etidronate (a Non-NBP): a proposal for possible utilization of etidronate as a substitution drug for NBP. Takefumi Oizumi, Hiromi Funayama, Kouji Yamaguchi, Masayoshi Yokoyama, Harue Takahashi, Miou Yamamoto, Toshinobu Kuroishi, Hiroyuki Kumamoto, Keiichi Sasaki, Hiroshi Kawamura, Shunji Sugawara, Yasuo Endo. J Oral Maxillofacial Surgery 2010;68:1043-1054.
4. Osteonecrosis of the jawbones in 2 osteoporosis patients treated with a nitrogen-containing bisphosphonate: osteonecrosis reduction replacing NBP with non-NBP (etidronate) and rationale. Kouji Yamaguchi, Takefumi Oizumi, Hiromi Funayama, Hiroshi Kawamura, Shunji Sugawara, Yasuo Endo. J Oral Maxillofac Surg 2010;68:889-897.
5. Necrotic actions of nitrogen-containing bisphosphonates (NBP) and their inhibition by clodronate (a non-NBP) in mice: potential for utilization of clodronate as a combination drug with an NBP. Takefumi Oizumi, Kouji Yamaguchi, Hiromi Funayama, Toshinobu Kuroishi, Hiroshi Kawamura, Shunji Sugawara, Yasuo Endo. Basic Clin Pharmacol Toxicol 104:384-392 (2009)

[学会発表] (計 30 件)

2011

1. 窒素含有 bisphosphonates (NBP) による顎

- 骨壊死：etidronate (non-NBP) への切り換えを試みた5症例。山口晃史，大泉丈史，岡田諭，遠藤康男。歯科基礎医学会，2011-9/30~10/2，岐阜
2. ヒト・マウスの種々の細胞におよぼす zoledronate と etidronate の in vitro での効果。大泉丈史，田中志典，大木（小澤）亜紀子，黒石智誠，菅原俊二，遠藤康男。歯科基礎医学会，2011-9/30~10/2，岐阜
 3. Bisphosphonates (BPs) の細胞内取り込み：マウス耳介皮膚での BP 構造類似物質および ^3H -alendronate (^3H -Ale) を用いた検討。岡田諭，田中志典，大泉丈史，山口晃史，菅原俊二，遠藤康男。歯科基礎医学会，2011-9/30~10/2，岐阜
 4. マウスにおける minodronate の骨吸収抑制作用と炎症・壊死作用：他の bisphosphonates との比較。木山朋美，坂東加南，岡田諭，山口晃史，金始瑛，長谷川正和，佐々木啓一，山本照子，菅原俊二，遠藤康男。歯科基礎医学会，2011-9/30~10/2，岐阜
 5. 骨吸収抑制作用とは関連しない bisphosphonates (BPs) の鎮痛効果。清流正弘，金始瑛，岡田諭，山本照子，菅原俊二，遠藤康男。歯科基礎医学会，2011-9/30~10/2，岐阜
 6. マウス炎症性サイトカインに対する bisphosphonates の効果。船山ひろみ，宗正隆明，岡田諭，遠藤康男，朝田芳信。骨代謝学会。2011-7-28~30，大阪
 7. 窒素含有 bisphosphonates (NBPs) による顎骨壊死：etidronate (non-NBP) への切り換えを試みた5症例。山口晃史，大泉丈史，岡田諭，遠藤康男。骨代謝学会。2011-7-28~30，大阪
 8. ヒト歯周組織細胞におよぼす zoledronate および etidronate の in vitro での効果：他の細胞との比較（優秀ポスター賞）。田中志典，大泉丈史，木山朋美，岡田諭，遠藤康男。骨代謝学会。2011-7-28~30，大阪
 9. Bisphosphonates (BPs) の細胞内取り込み：マウス耳介皮膚での BP 構造類似物質および ^3H -alendronate (^3H -Ale) を用いた検討。岡田諭，田中志典，大泉丈史，山口晃史，遠藤康男。骨代謝学会。2011-7-28~30，大阪
 10. マウスにおける minodronate の骨吸収抑制作用と炎症・壊死作用：他の bisphosphonates との比較。坂東加南，山口晃史，金始瑛，岡田諭，大泉丈史，山本照子，遠藤康男。骨代謝学会。2011-7-28~30，大阪
 11. 骨吸収抑制作用とは関連しない bisphosphonates (BPs) の鎮痛効果。金始瑛，岡田諭，山本照子，菅原俊二，遠藤康男。骨代謝学会。2011-7-28~30，大阪
 12. 窒素含有 bisphosphonates のマウスでの炎症・壊死作用への IL-18 の関与。船山ひろみ，田島格，遠藤康男，朝田芳信。歯科基礎医学会，2010，9，20-22 東京
 13. マクロファージにおける Alendronate による pro-IL-1b 産生誘導とその clodronate による抑制。四釜洋介，永井康裕，岡田諭，大泉丈史，島内英俊，菅原俊二，遠藤康男。歯科基礎医学会，2010，9，20-22 東京
 14. Bisphosphonates (BPs) の炎症・壊死作用：マウス耳介皮膚での検討。岡田諭，大泉丈史，山口晃史，永井康裕，菅原俊二，遠藤康男。歯科基礎医学会，2010，9，20-22 東京
 15. 骨吸収抑制作用とは関連しない bisphosphonates (BPs) の鎮痛作用。金始瑛，永井康裕，山本照子，菅原俊二，遠藤康男。歯科基礎医学会，2010，9，20-22 東京
 16. Alendronate によるマクロファージにおける pro-IL-1 β 産生誘導と clodronate による抑制。遠藤康男。骨代謝学会 2010，7，21-23 東京
 17. Bisphosphonates (BPs) の炎症・壊死作用：マウス耳介皮膚での検討。岡田諭，大泉丈史，山口晃史，遠藤康男。骨代謝学会 2010，7，21-23 東京
 18. マウス耳介での zoledronate の炎症・壊死作用：炎症性サイトカインの関与。船山ひろみ，田島格，遠藤康男，朝田芳信。骨代謝学会 2010，7，21-23 東京
- 2009**
19. 窒素含有 bisphosphonates (NBPs) の壊死作用に対する組織サイトカインの関与：LPS による増強と clodronate (non-NBP) による抑制。船山ひろみ，田島格，遠藤康男，朝田芳信。歯科基礎医学会 2009，9，11 新潟
 20. 骨粗鬆症患者における窒素含有ビスホスホネート (NBPs) による顎骨壊死：Etidronate (non-NBP) への切り換えの試み。山口晃史，大泉丈史，岡田諭，遠藤康男。歯科基礎医学会 2009，9，11 新潟
 21. Bisphosphonates (BPs) の高齢マウス脛骨での効果。大泉丈史，岡田諭，山口晃史，菅原俊二，遠藤康男。歯科基礎医学会 2009，9，11 新潟
 22. 窒素含有 bisphosphonates (NBPs) の壊死作用：NBPs の細胞内取り込みに関する検討。木山朋美，大泉丈史，山口晃史，菅原俊二，遠藤康男。歯科基礎医学会 2009，9，11 新潟
 23. 窒素含有 bisphosphonate の骨との結合におよぼす etidronate の効果に関する分子イメージング的検討。山本未央，横山政宣，高橋春江，遠藤康男，佐々木啓一。歯科基礎医学会 2009，9，10 新潟
 24. 窒素含有 bisphosphonates (NBPs) の骨へ

- の結合：non-NBPs の効果. 岡田諭, 大泉丈史, 山口晃史, 遠藤康男. 歯科基礎医学会 2009, 9, 10 新潟
25. 窒素含有 bisphosphonates (NBPs) の骨への結合：non-NBPs の効果. 岡田諭, 大泉丈史, 山口晃史, 遠藤康男. 骨代謝学会 2009, 7, 25 大阪
26. 窒素含有 bisphosphonates (NBPs) の壊死作用：NBPs の細胞内取り込みに関する検討. 木山朋美, 大泉丈史, 山口晃史, 遠藤康男. 骨代謝学会 2009, 7, 23 大阪
27. 骨粗鬆症患者における窒素含有 bisphosphonates (NBPs) による顎骨壊死：Etidronate (non-NBP) への切り換えを試みた3症例. 山口晃史, 大泉丈史, 遠藤康男. 骨代謝学会 2009, 7, 23 大阪
28. 窒素含有 bisphosphonate の骨との結合におよぼす etidronate の効果. 岡田諭, 大泉丈史, 横山政宣, 高橋春江, 山本未央, 山口晃史, 佐々木啓一, 川村仁, 菅原俊二, 遠藤康男. 骨代謝学会 BP-Update 2009, 7, 23 大阪

6. 研究組織

(1) 研究代表者

遠藤康男 (ENDO YASUO)

東北大学・大学院歯学研究科・大学院非常勤講師

研究者番号：50005039

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

山口晃史 (YAMAGUCHI KOUJI)

東北大学・大学院歯学研究科・大学院非常勤講師

研究者番号：10372319