

令和 5 年 6 月 1 日現在

機関番号：17701

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K17024

研究課題名（和文）薬剤関連顎骨壊死に対する顎骨由来間質細胞の治療応用の検証

研究課題名（英文）Verification of therapeutic application of maxillary/mandibular bone marrow-derived stem cells for medication-related osteonecrosis of the jaw

研究代表者

松本 哲彦（MATSUMOTO, Akihiko）

鹿児島大学・医歯学総合研究科・客員研究員

研究者番号：60849107

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）：BP製剤の投与による合併症として薬剤関連顎骨壊死（MRONJ）の発症が多く報告されており、その治療法は確立されていない。MRONJは、抜歯や義歯性潰瘍においても発症し、外科的補綴前処置の妨げとなり、理想的な補綴治療を困難にさせる。近年、多分化能を有する間葉系幹細胞（MSCs）を用いた再生医療が注目され、中でも顎骨骨髓由来間質細胞（MBMSCs）は、歯科領域における再生医療に有用と考えられ、顎骨壊死に対する治療法として応用が期待される。本研究では、マウスおよびラットを用いてMRONJモデルの確立を試みた。さらに、MRONJモデルラット抜歯窩にMBMSC移植による治療効果を評価した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

MRONJの発症機序は未だ不明な点が多く治療法も確立されていない。治療法については保存的治療を第一選択とし、保存的治療で経過観察を行う間、口腔内に長期間骨が露出した状態が続き、義歯などの補綴装置は装着困難となり、咀嚼機能の著しい低下を招く。このため、MRONJに対する新たな治療法の開発が強く求められている。本研究はMRONJに対する新たな治療法開発を目的とした研究であり、MRONJモデルに対してMBMSC移植による治療効果を評価した初めての研究である。従って、この研究成果はMRONJに対するMBMSC移植治療法開発のための基礎となる研究であり、学術的・社会的意義の高いものである。

研究成果の概要（英文）：The onset of medication related osteonecrosis of the jaw (MRONJ) is known as a complication of administration of BP preparations, but no treatment has been established. MRONJ is also caused by tooth extractions and denture ulcers, and interferes with surgical pretreatment of prostheses, making ideal prosthesis treatment difficult. Recently, regenerative medicine using pluripotent mesenchymal stem cells (MSCs) has attracted attention. Maxillary/mandibular bone marrow derived MSCs (MBMSCs) are thought to be useful in regenerative medicine in the dental, and are expected to be applied as a treatment for MRONJ. In this study, we attempted to establish the MRONJ model using mice and rats. Furthermore, we evaluated the therapeutic effect of MBMSCs transplantation into the extraction socket of MRONJ model rats.

研究分野：歯科補綴学

キーワード：薬剤関連顎骨壊死 間葉系幹細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

薬剤関連顎骨壊死 (medication related MRONJ) は、骨粗鬆症や癌領域における骨転移予防の目的で使用されるBP製剤や抗RANKL抗体 (デノスマブ製剤) などの薬剤が原因で顎骨に壊死を発症する疾患である。発症率は内服薬で約0.1%、点滴製剤では約1~2%であり、発症機序は未だ不明な点が多く治療法も確立されていない。多くの基礎研究や臨床研究により病因として、骨代謝の過抑制、血管新生阻害、免疫抑制障害、軟組織毒性、口腔細菌の感染、顎骨への外科的侵襲などが指摘されている。治療法については保存的治療を第一選択とし、保存的治療で経過観察を行う間、口腔内に長期間骨が露出した状態が続く。義歯などの補綴装置は装着困難となり、咀嚼機能の著しい低下を招く。

このような状況の中、再生医療分野において間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cells:MSCs) の組織分化能は様々な研究が進んでおり、障害組織へのMSCの投与により組織特有の細胞への分化が認められ、欠損組織に取って代わることが証明されている。また、MSCの分化能に加えて、パラクライン因子分泌により、血管新生促進、細胞増殖促進、さらには免疫調節機能により抗炎症作用と免疫抑制を備えていることが証明されており (Uccelli A, et al., Nat Rev Immunol, 2008)、MRONJに対してもMSC移植が治療法の一つとして注目されている。

MSCは骨髄、脂肪、滑膜など全身のさまざまな組織中に存在することが報告されている。我々は先行研究で顎骨骨髄中にもMSCが存在することを明らかにし、顎骨骨髄由来MSC (maxillary/mandibular bone marrow derived MSCs:MBMSCs) は腸骨骨髄由来MSC (iliac bone marrow derived MSCs:IBMSCs) と同等かそれ以上の骨分化能を持つことを報告した (Matsubara T, et al., J Bone Miner Res, 2005)。MBMSCはインプラント手術の際に簡便にかつ低侵襲に採取することができるため、歯科領域の骨再生治療への応用が期待されている。

MRONJとMSCとの関連については、in vivoにおいてBP製剤の投与により顎骨由来MSCは腸骨あるいは腓骨由来MSCと比較して有意に骨形成能が抑制されていたことが報告され (Gong X, et al., Nature Scientific Reports, 2017)、MSCについてはさらなる研究が必要である。MBMSC移植はMRONJに対する新たな治療法として期待されるが、その効果については依然として不明である。また、MRONJ患者からMBMSCを採取した報告はなく、現実的に可能かどうかも定かではない。

2. 研究の目的

本研究では、MRONJに対するMBMSC移植による治療効果を検証するために、マウスまたはラットを用いてMRONJモデルの確立をおこない、作成したMRONJモデル動物に対してMBMSCを移植して治療効果を評価することを目的とする。

3. 研究の方法

(1)マウス MRONJ モデルの作成

使用動物: C57BL6/J マウス (メス 8~12 週齢)

モデル作成法と評価法: ゴレドロン酸 (0.05 mg/kg) を皮下注射、シクロフォスファミド (100 mg/kg) を腹腔内注射にて投与。それぞれの薬剤は週 2 回投与し、投与後 3 週間目に上顎大臼歯を抜歯、抜歯後 4 週間も薬剤の投与を継続し、モデル作成開始から 7 週目に安楽死をおこない、抜歯窩において抜歯窩粘膜の肉眼的評価と HE 染色による組織学的評価を実施した。

(2)ラット MRONJ モデルの作成

使用動物: Wister ラット (メス 8~12 週齢)

モデル作成法と評価法: ゴレドロン酸 (0.1 mg/kg) を腹腔内注射にて投与。薬剤は週 3 回投与し、投与後 9 週目に上顎大臼歯を抜歯、抜歯後 4 週間も薬剤の投与を継続し、モデル作成開始から 12 週目に安楽死をおこない、抜歯窩において抜歯窩粘膜の肉眼的評価と HE 染色による組織学的評価を実施した。

(3)MRONJ モデルラットへの MBMSC 移植による治療効果の検証

使用動物: Wister ラット (メス 8~12 週齢)

モデル作成法と評価法: ゴレドロン酸 (0.1 mg/kg) を腹腔内注射にて投与。薬剤は週 3 回投与し、投与後 9 週目に上顎大臼歯を抜歯する。抜歯直後に抜歯窩に、MBMSC 移植、IBMSC 移植、MBMSC+オスフェリオン混和物の移植、MBMSC+サイトランス混和物の移植をおこなう。移植後はさらに 4 週間薬剤の投与を継続し、モデル作成 12 週目に安楽死をおこない、抜歯窩において抜歯窩粘膜の肉眼的評価と HE 染色による組織学的評価を実施した。

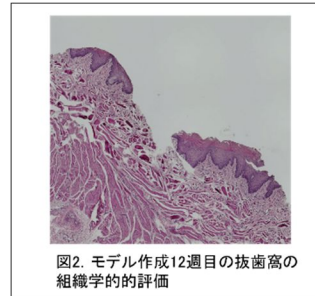
4. 研究成果

(1) マウス MRONJ モデルの作成

マウス MRONJ モデルは、マウス個体の大きさが小さく抜歯をおこなうのが非常に困難であり、正確に抜歯できないことによって抜歯後に顎骨壊死にまで至らないケースが多数見受けられた。また、抜歯窩が小さく、必要量の細胞を移植するためのスペースが確保できないため、細胞移植による MRONJ 治療効果の判定が困難であると考え、マウス MRONJ モデルは本研究のモデルとして適切ではないと判断した。

(2) ラット MRONJ モデルの作成

ラット MRONJ モデルはマウスと比較して、容易に抜歯が可能であった。モデル作成から 12 週間後の抜歯窩の肉眼的評価によると、一部で骨露出が確認された(図 1)。また、組織学的評価によって、MRONJ モデルは上皮の連続性が絶たれたままで、炎症細胞の浸潤が確認された(図 2)。そこで以降の検討項目では、ラット MRONJ モデルを用いておこなった。



(3) MRONJ モデルラットへの MBMSC 移植による治療効果の検証

次にラット MRONJ モデルにおいて、抜歯窩に MBMSC を移植することによる MRONJ の治療効果の評価した。本検討項目では、MBMSC および比較群として他の腸骨骨髓由来 MSC (IBMSC) の移植をおこなった。細胞の移植に際して、細胞単体の移植と、細胞と骨補填剤を混和した移植体を作成し、移植をおこない効果の比較をおこなった。本研究で移植に用いた骨補填剤は顆粒状のオスフェリオン (-TCP) とサイトランス(炭酸アパタイト)を用いた。

今回は MBMSC および IBMSC、さらに骨補填剤と混和した移植体を移植したいずれの群においても MRONJ の明らかな治療効果は得られなかった。治療効果が得られなかった原因として、移植した細胞数が適切でなかった可能性が考えられる。また、今回の移植法として、細胞移植体を抜歯窩に填入する方法を用いたが、移植法の改善も今後の検討課題である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 松本 哲彦、定成 美来、住田 知樹
2. 発表標題 埋入から14年経過後にインプラント周囲炎および薬剤関連顎骨壊死を発症した1例
3. 学会等名 第30回日本有病者歯科医療学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松本 哲彦、末廣 史雄、益崎 与泰、駒走 尚大、櫻井 智章、小野 草太、田中 謙光、西村 正宏
2. 発表標題 上顎洞底挙上術において炭酸アパタイトを用いた骨造成術の臨床的検討
3. 学会等名 第51回日本口腔インプラント学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 櫻井 智章、小野 草太、宮田 春香、駒走 尚大、松本 哲彦、益崎 与泰、末廣 史雄、西村 正宏
2. 発表標題 当院口腔インプラント専門外来における過去8年間のインプラント治療の臨床的検討
3. 学会等名 日本口腔インプラント学会 第39回九州支部学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田中 謙光、末廣 史雄、益崎 与泰、駒走 尚大、松本 哲彦、西村 正宏
2. 発表標題 炭酸アパタイト顆粒を用いて上顎洞底挙上術を併用してインプラント治療を行った1症例
3. 学会等名 日本口腔インプラント学会 第40回九州支部学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 末廣 史雄, 駒走 尚大, 石井 正和, 益崎 与泰, 田中 謙光, 松本 哲彦, 戸澤 聖也, 山田 悠平, 西村 正宏
2. 発表標題 顎骨骨髓間葉系幹細胞採取条件の検討
3. 学会等名 第22回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2023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
研究協力者	西村 正宏 (NISHIMURA Masahiro)		
研究協力者	石井 正和 (ISHII Masakazu)		
研究協力者	末廣 史雄 (SUEHIRO Fumio)		
研究協力者	益崎 与泰 (MASUZAKI Tomohiro)		
研究協力者	駒走 尚大 (KOMABASHIRI Naohiro)		

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
研究協力者	池田 菜緒 (IKEDA Nao)		
研究協力者	櫻井 智章 (SAKURAI Tomoaki)		

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