

令和 6 年 5 月 30 日現在

機関番号：32612

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2023

課題番号：21K21096

研究課題名（和文）炎症性サイトカイン制御による骨破壊性疾患における抗炎症性作用機序の解明

研究課題名（英文）Anti-inflammatory mechanisms of action in bone-destroying diseases through inflammatory cytokine regulation

研究代表者

相馬 智也（Soma, Tomoya）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・助教

研究者番号：10624637

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、骨吸収抑制薬の投与と口腔内常在菌により骨壊死発症機序について、解析をす行った。口腔外科領域では骨破壊などを伴う炎症性疾患が多い。MRONJも炎症を伴う骨破壊性疾患のひとつである。これまで、ビスフォスフォネート製剤を投与したモデルを使用し炎症性サイトカインが、骨壊死の発生や破骨細胞を介した骨破壊を引き起こすことを明らかにした。本研究では、マウス顎骨モデルの作成を行い、それに加えある薬剤投与により骨壊死の抑制効果についても確認し、さらにある種の薬剤の投与によりマウス血清中の炎症性サイトカインを抑制することで全身に作用し骨壊死の抑制効果を示している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

骨破壊性疾患である骨吸収薬剤関連顎骨壊死のヒトに近似した動物モデルの確立は、発症機序の解明や治療法の開発には欠かすことのできないものである。要因は、未だはっきりとは解明されておらず、歯科医師は治療前後の休薬やその妥当性の判断を含めた方針の決定に難渋している。また、ビスフォスフォネート製剤が、骨粗鬆症の治療以外に、癌の骨転移など様々な病態に使用されていることから、顎骨壊死の患者数は多く難治性の疾患である。現在、主たる治療法として行われている、保存療法や外科的治療アプローチに代わる新たな戦略が求められており、新規治療法の可能性となるのある本研究の成果は極めて重要なものであると考えている。

研究成果の概要（英文）： Many animal models of MRONJ have been reported, but most of these studies have focused on the content of the drugs administered. The fact that osteonecrosis develops only in limited areas despite systemic administration of anti-resorptive agent led us to hypothesize that infection by oral bacteria contributes to the development of osteonecrosis. We analyzed how osteonecrosis is caused by the administration of ARA and oral bacteria. Using a model, the applicants have shown that inflammatory cytokines induce osteonecrosis and osteoclast-mediated bone destruction.

In this study, we created a model of MRONJ of mice and confirmed that administration of certain drugs suppressed osteonecrosis, suggesting that administration of drugs may suppress inflammatory cytokines in mouse serum, thereby acting systemically to suppress osteonecrosis. The results of this study suggest that the administration of drugs may inhibit osteonecrosis by suppressing inflammatory cytokines in the serum of mice.

研究分野：骨代謝

キーワード：顎骨壊死 破骨細胞

様式 C - 19 , F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ビスフォスフォネート製剤をはじめとする骨吸収抑制薬は、歯科口腔外科領域での顎骨壊死や耳鼻咽喉科領域での外耳道骨壊死など、限定的な部位で骨壊死を引き起こすことが分かっているが、発症メカニズムは解明されておらず、治療は対症療法が中心となっている。近年では、骨吸収抑制薬が顎骨壊死発症のリスクとなると考えられており、投与前・投与中に歯科口腔外科へ受診するケースも少なくない。現在、口腔衛生の向上が薬剤関連顎骨壊死のポジションペーパーに記載されているが、口腔衛生状態が良好な場合でも骨壊死が生じることもあり、完全な予防方法は確率できていない。また、全身投与にも関わらず、骨壊死が限定的な部位にしか起こらないという特異性はどのように生じるのか、また骨壊死に陥るメカニズムは何か、を解明するために、申請者は新たに確立した疾患動物モデルを用いて解析を進め、既に臨床において用いられているVD、NSAIDsを用いた炎症性サイトカインを介した抗炎症性作用の機序を解明することができれば、その適応を広げ、口腔外科領域の炎症性疾患においても、新たな治療方法の可能性を導けると考え本研究を開始した。

2. 研究の目的

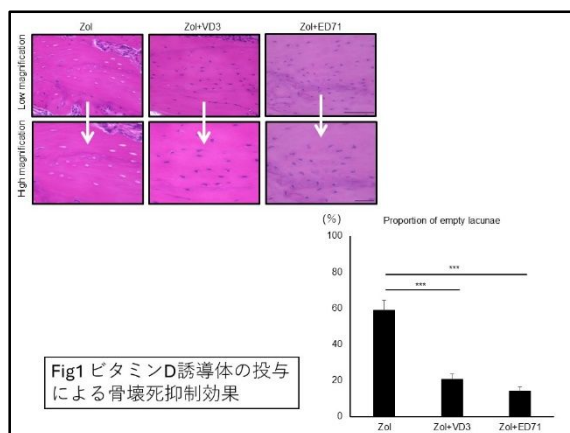
以前から、疾患動物モデルの報告は行われているが、その多くは骨吸収抑制薬などの薬剤投与量やその種類に注目したものである。この疾患は上下顎骨と耳鼻咽喉科領域での外耳道にしか起こらないという特異性から、申請者は口腔内常在菌が骨壊死に陥る作用点となっているのではないかと考えた。そのことから、骨吸収薬関連顎骨壊死マウスモデルを新たに樹立し、実際の病態により近似したマウス顎骨モデルを用いて常在菌による骨破壊性疾患のメカニズムを解明し、外科的治療に代わる新たな治療方法の確立を目指したいと考えている。

3. 研究の方法

*In vivo*においては、より病態生理に近似したモデルを作成するため、骨吸収抑制薬のビスフォスフォネート製剤として薬理活性および骨吸収抑制活性が他剤に比べて強力であるゾレドロネートを用いたマウスの口腔内細菌により誘発される顎骨壊死モデルを新たに樹立した。このモデルにおいては、ビスフォスフォネート製剤投与下に顎骨に抜歯等の侵襲的処置を加えることで骨壊死を高頻度引き起こすことが可能であり、このマウスモデルを用いて解析を行った。また、確立したマウスモデルへビタミンD誘導体の投与を行うことにより骨壊死の発症の抑制効果があるかを比較検討した。*In vitro*においては、野生型マウス由来の骨髄細胞の破骨細胞培養系にゾレドロネートの添加実験を行った。TRAP陽性の破骨細胞はゾレドロネートの濃度に依存し破骨細胞を抑制していることを確認し、採取したRNAからQuantitative real-time PCRで破骨細胞分化マーカーと炎症性サイトカインの発現を評価し、ビタミンD誘導体の添加により炎症性サイトカインにどのような変化があるかも評価を行った。

4. 研究成果

申請者らは、抜歯処置とマウス口腔内常在菌による骨吸収薬関連顎骨壊死動物モデルを確立した。ビスフォスフォネート製剤として薬理活性および骨吸収抑制活性が他剤に比べて強力であるゾレドロネート(以下;Zol)を週1回2週間投与したのちに、マウスの下顎骨の臼歯を抜歯し、評価した。抜歯後の顎骨を病理組織学的に評価したところ健側は骨小腔内に骨細胞が残っているのに対し、抜歯を行った群では骨小腔から骨細胞が消え、empty lacunaeとなっていた。Zolの投与のみでは骨壊死は発生せず、口腔内常在菌が発症に寄与している可能性が示唆された。マウス口腔内での顎骨壊死動物モデルを確立したことで、より病態生理に近似したモデルで解析が可能となっている。また*In vitro*で、破骨細胞の培養系にZolの添加実験を行った。TRAP陽性の破骨細胞はZolの濃度に依存し破骨細胞を抑制していることを確認した。CtskやNFATc1などの破骨細胞分化マーカーの、mRNAの発現量の低下を確認した。細胞のアポトーシスを誘導するTNF α を含めた、炎症性サイトカインに着目した。TNF α , IL-6等の発現は、Zolの濃度依存的に発現上昇がみられ、骨壊死は細菌だけの作用だけでなくZolの投与により炎症作用を高めると推測された。TNF α , IL-6等のノックアウトマウス(以下;KOマウス)を用いて、検証したところ、野生型マウスで起きていた骨壊死がKOマウスでは起きにくいことを実証した。炎症性サイトカインが骨細胞のアポトーシスを起こし、骨壊死を引き起こしている原因と推定し、我々が確立したモデルに、ビタミンD誘導体を投与したところ、投与群では骨壊死発生率が有意に抑制された(Fig1)。以上の結果から、細菌感染によってマクロファージから産生される炎症性サイトカインが骨壊死を代表とする骨破壊性疾患を惹起する可能性が示唆された。これらの炎症は、Zolをはじめとする骨吸収抑制薬を投与することで、破骨細胞の機能を抑制することで、その前



破骨細胞の機能を抑制することで、その前

駆細胞であるマクロファージへの分化転換することにより，その下流で引き起こされる炎症が強く引き起こされると考えられる．

このことから，ビタミン D 誘導体の投与で炎症性サイトカイン制御による口腔外科領域における抗炎症作用の機序を解明することができれば，その適応を広げ，口腔外科領域の炎症性疾患においても，手術療法に代わる新たな治療の可能性を導けると考えている．

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 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Soma Tomoya, Iwasaki Ryotaro, Sato Yuiko, Kobayashi Tami, Ito Eri, Matsumoto Tatsuaki, Kimura Atsushi, Miyamoto Kana, Matsumoto Morio, Nakamura Masaya, Morita Mayu, Asoda Seiji, Kawana Hiromasa, Nakagawa Taneaki, Miyamoto Takeshi	4. 巻 12
2. 論文標題 Osteonecrosis development by tooth extraction in zoledronate treated mice is inhibited by active vitamin D analogues, anti-inflammatory agents or antibiotics	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-03966-6	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 Kimura Atsushi, Hirayama Akiyoshi, Matsumoto Tatsuaki, Sato Yuiko, Kobayashi Tami, Ikeda Satsuki, Maruyama Midori, Kaneko Mari, Shigeta Mayo, Ito Eri, Soma Tomoya, Miyamoto Kana, Soga Tomoyoshi, Tomita Masaru, Oya Akihito, Matsumoto Morio, Nakamura Masaya, Kanaji Arikiko, Miyamoto Takeshi	4. 巻 12
2. 論文標題 Hao1 Is Not a Pathogenic Factor for Ectopic Ossifications but Functions to Regulate the TCA Cycle In Vivo	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Metabolites	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/metabo12010082	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 Yamada Manabu, Iwata Sho, Nishi Kentaro, Ochiai Shunsuke, Araki Daisuke, Soma Tomoya, Yamada Yuka, Miyashita Hidetaka, Suga Kenichiro, Asoda Seiji	4. 巻 34
2. 論文標題 Remarkable response of diffuse sclerosing osteomyelitis of the mandible to zoledronate by single infusion without prior treatment of other bisphosphonates	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Medicine, and Pathology	6. 最初と最後の頁 777 ~ 783
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ajoms.2022.05.011	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 Ito Eri, Sato Yuiko, Kobayashi Tami, Soma Tomoya, Matsumoto Tatsuaki, Kimura Atsushi, Miyamoto Kana, Matsumoto Hideo, Matsumoto Morio, Nakamura Masaya, Sato Kazuki, Miyamoto Takeshi	4. 巻 153
2. 論文標題 Transient alendronate administration to pregnant or lactating mothers prevents bone loss in mice without adverse effects on offspring	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bone	6. 最初と最後の頁 116133 ~ 116133
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bone.2021.116133	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 Ito Eri, Sato Yuiko, Kobayashi Tami, Nakamura Satoshi, Kaneko Yosuke, Soma Tomoya, Matsumoto Tatsuki, Kimura Atushi, Miyamoto Kana, Matsumoto Hideo, Matsumoto Morio, Nakamura Masaya, Sato Kazuki, Miyamoto Takeshi	4. 巻 542
2. 論文標題 Treatment with an active vitamin D analogue blocks hypothalamic dysfunction-induced bone loss in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 48 ~ 53
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2021.01.026	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 -

〔学会発表〕 計8件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 相馬智也, 森田麻友, 岩崎良太郎, 筋生田整治, 中川種昭, 宮本健史
2. 発表標題 Zoledronate投与マウスにおける顎骨壊死はビタミンDの投与により抑制される
3. 学会等名 第40回日本骨代謝学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 相馬智也, 森田麻友, 岩崎良太郎, 筋生田整治, 河奈裕正, 中川種昭, 宮本健史
2. 発表標題 骨吸収薬剤関連顎骨壊死マウスモデルにおけるビタミンDの抑制効果
3. 学会等名 第67回(公社)日本口腔外科学会総会・学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 宗像 花楠子, 宮下 英高, 山田 有佳, 相馬 智也, 岩崎 良太郎, 堀江 伸行, 福田 諒, 矢島 祥助, 中川 種昭, 筋生田 整治
2. 発表標題 薬剤関連顎骨壊死患者のQOLに関する前向き観察研究
3. 学会等名 第67回(公社)日本口腔外科学会総会・学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名	田中健太, 安居孝純, 木村萌美, 長嶺宏樹, 相馬智也, 軽部健史, 臼田 慎, 村岡 渡, 筋生田整治, 中川種昭, 鬼澤勝弘
2. 発表標題	小児上顎正中過剰埋伏歯の埋伏位置, 方向に基づいた抜歯のアプローチの検討
3. 学会等名	第34回日本小児口腔外科学会総会・学術大会
4. 発表年	2022年

1. 発表者名	岡崎章悟, 吉川桃子, 相馬智也, 筋生田整治, 今井 健一, 後飯塚僚, 佐谷秀行, 永野修
2. 発表標題	FOXA1 suppresses tumor growth by inhibiting;activation induced;by lipid-derived aldehydes in oral cancer
3. 学会等名	第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年	2022年

1. 発表者名	相馬智也, 森田麻友, 岩崎良太郎, 筋生田整治, 中川種昭, 宮本健史
2. 発表標題	骨吸収抑制薬関連顎骨壊死モデルにおける炎症性サイトカイン制御による抑制効果の検証
3. 学会等名	第39回日本骨代謝学会学術集会
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	宗像 花桐子, 宮下 英高, 山田 有佳, 岩崎良太郎, 堀江伸行, 金生茉莉, 相馬 智也, 中川 種昭, 筋生田 整治
2. 発表標題	外科療法を実施した薬剤関連顎骨壊死患者のQOL調査
3. 学会等名	第66回(公社)日本口腔外科学会総会・学術大会
4. 発表年	2021年

1. 発表者名 相馬智也, 森田麻友, 岩崎良太郎, 筋生田整治, 河奈裕正, 中川種昭, 宮本健史
2. 発表標題 ゾレドロネート投与と侵襲的歯科処置は, 炎症性サイトカインを上昇させ, 骨吸収薬剤関連顎骨壊死を誘発する
3. 学会等名 第75回NPO法人日本口腔科学会学術集会
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

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