

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25年 4月15日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22791949

研究課題名（和文） 骨吸収抑制薬ビスホスホネートによる顎骨壊死モデルマウスの作成と抗腫瘍作用の研究

研究課題名（英文） Study of anti-tumor effect and creation of osteonecrosis of the jaw model mice by bone resorption inhibitor bisphosphonates

研究代表者

大泉 文史 (OIZUMI TAKEFUMI)

東北大学・病院・医員

研究者番号：40547262

研究成果の概要（和文）：本研究における骨吸収抑制剤ビスホスフォネートの抗腫瘍作用に関して、骨吸収抑制作用が最強の zoledronate と窒素非含有ビスホスフォネートの etidronate の併用投与により、zoledronate の抗腫瘍作用を etidronate が抑制したことを明らかにした。また、顎骨壊死モデルマウスの作製に関しては、マウス顎骨では作成が困難と考えられた。

研究成果の概要（英文）：Results of this study, in vitro effects of a nitrogen-containing bisphosphonate (NBP) (zoledronate) and a non-NBP(etidronate), alone or in combination, on periodontal and other cells. For the preparation of osteonecrosis of the jawbone model mice, I was considered created difficult in mice jawbone.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
2012年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

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：顎骨壊死，ビスホスホネート

1. 研究開始当初の背景

強力な骨吸収抑制薬であるビスホスフォネート（BP）はピロリン酸の P-O-P 構造を P-C-P 構造に置換した化合物であり、P-C-P の炭素原子に結合する側鎖に様々な化学的修飾を加えたものである。BP は側鎖にアミノ基を含む窒素含有 BP (NBP) と窒素非含有 BP (non-NBP) の2種類が存在する。BPs は骨

ハイドロキシアパタイトに強い親和性を持つため選択的に骨に集積する。骨に結合した BPs は、骨吸収の過程で破骨細胞に取り込まれ、アポトーシスを誘導する事により骨吸収抑制作用を示すと言われている。その強い骨吸収抑制作用は、前立腺癌や乳癌のような骨転移性腫瘍、骨粗鬆症、骨ページェット病、骨形成不全症および多発性骨髄腫などの骨

吸収亢進性疾患に広く応用され、現在世界中で2億人の患者に投与されている。特に前立腺癌、乳癌や肺癌などの骨転移を示す悪性腫瘍においてBPを予防的に投与する事により骨転移を抑制すると考えられている。また、癌性骨痛に対しても抑制効果を示し、患者のQOLを向上させる。しかしながら、‘顎骨壊死とそれによる顎骨の露出’という予期せぬ副作用が最近続発し、この3-4年で数千人の発症が報告されている。顎骨壊死は、NBPにより発症し、骨吸収抑制作用が最強のzoledronateによる発症頻度が最も高い。しかし、pamidronate, alendronate, risedronateなど他のNBPでも発症が確認されている。一方、non-NBPのclodronateとetidronateでは明らかな発症例は無い。顎骨壊死の誘因として、歯科治療や口腔細菌が想定されている。上述の様にBPは骨ハイドロキシアパタイトに強く結合し、反復投与により骨に蓄積するため、現状のまま投与が続けられれば、さらに多くの発症が予想される。この副作用に対する対応および原因解明が急務である。

2. 研究の目的

ビスホスホネート(BP)には窒素含有(NBP)と非含有(non-NBP)があり、骨吸収抑制作用の強いNBPが広く用いられている。最近、“顎骨の壊死・露出”という副作用が発症し、すでに数千例が確認され、なお増加が続いている。副作用の殆どはNBPによる。私達はマウスでの研究で、NBPの炎症・壊死作用non-NBP(etidronateおよびclodronate)が抑制すること、また、NBPの骨吸収抑制作用を、etidronateは、骨への結合において拮抗し、clodronateは拮抗しないことを明らかにした。これらの結果は、clodronateはNBPの併用薬、また、etidronateはNBPの代用薬となる可能性を示唆する。従って、本研究の目的として

以下を行う。(i) 骨転移性腫瘍に対する“non-NBP+NBP”の効果、(ii) 顎骨壊死マウスモデルの作製。(iii) Non-NBPの顎骨壊死の治療の臨床応用

3. 研究の方法

(1) 骨転移性腫瘍に対する“non-NBP + NBP”の効果の検討。

癌細胞に対するNBP + non-NBPの効果のin vitroでの検討する。また、骨に転移した癌細胞が、NBPとnon-NBPを骨から吸収する可能性を想定して、これらのBPを吸着させたハイドロキシアパタイト表面で癌細胞を培養した場合の効果についても検討する。

(2) 顎骨壊死マウスモデルの作製。

BPは骨の炎症部位に集積するため、NBPの集積にさらに抜歯の刺激を加えることにより、炎症をさらに増幅し、骨破壊を促進し、骨の壊死につながることを予想される。従って、本研究では骨の炎症を伴う次の二つのモデルについて、顎骨壊死の作製を検討する。①マウス歯周炎モデル(診断科・庄司講師との共同研究で行う)②コラーゲンtype II誘導性マウス関節炎モデル

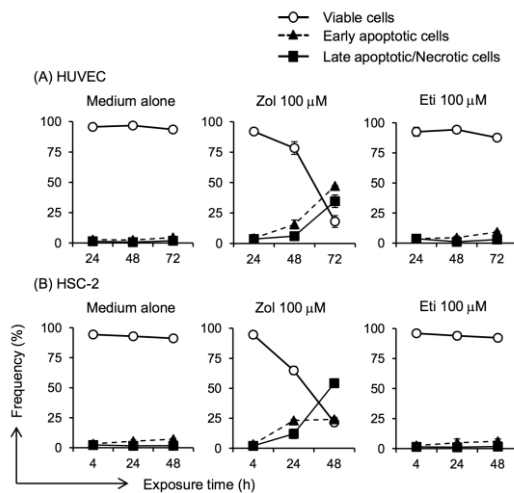
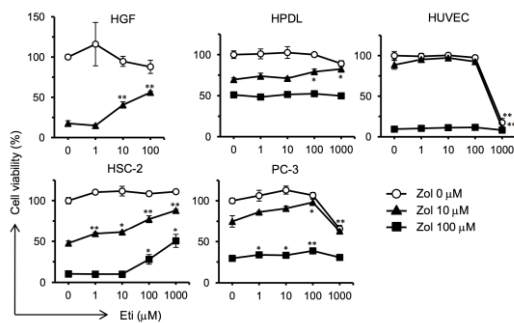
(3) Non-NBPの顎骨壊死の治療の臨床応用。ビスフォスフォネート関連顎骨壊死と考えられた患者にインフォームドコンセントのもとで、etidronateへの置換療法を行った。

4. 研究成果

(1) 骨転移性腫瘍に対する“non-NBP+NBP”の効果。

ヒト培養歯根膜HPDL、扁平上皮癌細胞HSC-2や前立腺癌細胞Pc-3等の細胞において骨吸収抑制作用が最強のzoledronateと窒素非含有ビスフォスフォネートのetidronateの併用投与によりzoledronateの抗腫瘍作用をetidronateが抑制したこ

とを明らかにし、論文発表を行った。



(2) 顎骨壊死マウスモデルの作製.

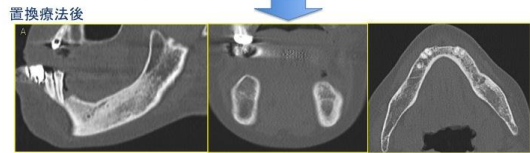
抜歯等の顎骨への侵襲およびマウス顎骨への NBP の直接投与、LPS との混合投与を試みるも、マウス顎骨骨髓の狭小さから骨髓炎および顎骨壊死は認められなかった。

(3) Non-NBPs の顎骨壊死の治療の臨床応用. 結果はいずれの場合も良好であり、etidronate への切り換え 3 週間以内で痛みと排膿が消え、炎症も次第におさまり、数ヶ月後の CT 画像および骨シンチ像で、骨硬化像および炎症部位の明らかな減少が確認された。

【CT所見】

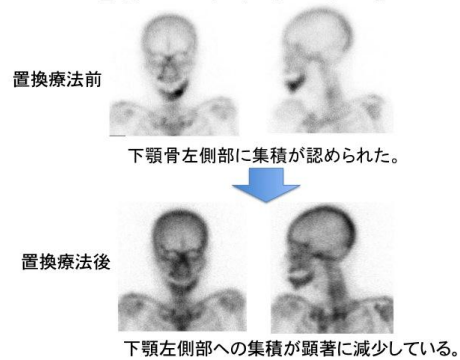


下顎骨左側骨体部に境界不明瞭な骨硬化像、皮質骨と海綿骨の境界不明瞭、左下大臼歯根尖部に高度骨吸収を認める。



下顎骨左側に骨硬化像が認められるもの、海綿骨部の不透過像が顕著に軽減している。

【骨シンチグラフィ】



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 1 件)

① Takefumi Oizumi, In vitro cytotoxicity of zoledronate (nitrogen-containing bisphosphonate: NBP) and/or etidronate (non-NBP) in tumour cells and periodontal cells. Arch Oral Biol. 2013 Jun;58(6):628-37.

doi:10.1016/j.archoralbio.2012.11.010 「査読あり」

[学会発表] (計 5 件)

① 大泉丈史 当科におけるビスフォスフォネート投与患者の状況 第 57 回日本口腔外科学会 2012 年 10 月 20 日 横浜

②大泉丈史 窒素含有 bisphosphonates (NBPs) による顎骨壊死： non-NBP の etidronate (ダイドロネル) への切り換えを試みた5症例 第14回日本骨粗鬆症学会 2012年9月27日 新潟

③大泉丈史 窒素含有 bisphosphonates (NBPs) による顎骨壊死： non-NBP の etidronate (ダイドロネル) への切り換えを試みた5症例 第33回東北骨代謝研究会 2012年2月4日 仙台

④大泉丈史 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
In vitro effects of zoledronate and etidronate on various human and murine cells 第53回歯科基礎医学会 2011年9月30日 岐阜

⑤大泉丈史 BRONJ に対する窒素非含有ビスフォスフォネートへの切り換えの試み 第56回日本口腔外科学会 2011年9月10日 大阪

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大泉 丈史 (OIZUMI TAKEFUMI)

東北大学・病院・医員

研究者番号：40547262

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者