

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 5 月 26 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2017

課題番号：26861789

研究課題名(和文) 3DSを用いた全身的感染予防プログラムの臨床的評価および作用機序の解明

研究課題名(英文) Clinical evaluation and action mechanism elucidation of systemic infection prevention program using 3DS

研究代表者

新里 法子(NIIZATO, Noriko)

広島大学・医歯薬保健学研究科(歯)・助教

研究者番号：10508104

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：化学療法や放射線治療などの骨髄破壊的処置を伴う造血幹細胞移植を受ける小児が増えている。これらの治療は重篤な口腔粘膜炎を惹起し、痛みや摂食困難を生じるとともに、小児のQOLの低下を招く。本研究では、骨髄抑制下にある小児の口腔粘膜状態を評価するため、新しい粘膜評価基準を作成した。次に、3DSを応用した全身的感染予防プログラムを実施し、粘膜炎を軽減させることができた。また、3DSにより粘膜炎が軽減するメカニズムを明らかにした。さらに、化学療法や放射線治療などの治療により、永久歯の欠損や矮小歯、形態異常歯が高頻度で発生することを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：We have created a new criterion for evaluating the oral mucosal status of children undergoing hematopoietic stem cell transplant with myeloablative treatment. After that, we devised a systemic infection prevention program using 3DS and showed that clinical application of 3DS can mitigate mucositis. Then we clarified the mechanism by which 3DS relieves mucositis. And we found that permanent teeth defects, dwarf teeth and morphologically abnormal teeth occur frequently with chemotherapy and radiotherapy treatments.

研究分野：小児歯科

キーワード：3DS 口腔粘膜炎 小児がん治療 口腔内除菌システム 免疫抑制

1. 研究開始当初の背景

小児の悪性腫瘍などの疾患に対する化学療法や、頭頸部を照射野に含めた放射線療法などの免疫抑制療法は、しばしば粘膜炎などの口腔内合併症を引き起こす。このような口腔内合併症の頻度や重症度は、行われた治療や年齢によって異なるが、補助化学療法の約10%、術前化学療法の約40%、放射線全身照射 (Total Body Irradiation : TBI) や超大量化学療法をとる造血幹細胞移植の約80%に何らかの口腔内合併症が生じるとされている。そのため National Institutes of Health の勧告においても、「すべてのがん患者は、歯科専門家によるがん治療前の口腔スクリーニング並びに治療中の継続的な口腔ケアを受けるべきである」とされている。

また近年はクリーンルームの整備が進み、抗菌薬や G-CSF などを用いた支持療法が進歩したため、造血幹細胞移植の導入による大量化学療法が一般的となった。その結果、抗がん治療によって引き起こされる口腔内合併症が顕在化するようになり、免疫抑制患児の口腔内管理の重要性が増してきている。

化学療法や放射線療法などの免疫抑制療法の代表的な口腔内合併症には、晩期障害として永久歯の形成不全、口腔粘膜障害、口腔細菌や真菌の感染、唾液分泌機能の低下による口腔乾燥症や、骨髄移植など造血幹細胞移植の副作用として現れる Graft Versus Host Disease (GVHD) などが挙げられる。細菌・真菌の感染や口腔粘膜の炎症は高頻度に発生する合併症で、成人患者の場合、口腔清掃などの歯科保健行動によって軽減されたとの報告がある。しかし、免疫抑制療法に対する口腔内合併症の重篤度や発生率に関する成人患者を対象とした調査は多くみられるが、小児を対象にしたものは少ない。また、免疫抑制療法を行う患者に対して口腔粘膜炎予防と感染予防の観点から、口腔ケアの重要性が指摘されているが、免疫抑制患児に対する口腔ケアプログラムの確立には至っていない。

近年、歯科医療の現場では、齲蝕や歯周疾患のリスクの高い患者に対し、マウスピース様のドラッグリテーナーと抗菌薬を応用した口腔内除菌システム (Dental Drug Delivery System: 3DS) が用いられるようになってきている。3DS とは機械的なバイオフィルム破壊 (Professional Mechanical Tooth Cleaning: PMTC) の後、マウスピース様ドラッグリテーナーの中に抗菌剤を入れて装着することで、歯牙表面に生息する有害な細菌叢を積極的に除去し、口腔内粘膜から無害な細菌叢を供給、定着させる方法である。これは主として健常な成人に対して用いられる方法であり、免疫抑制療法を受ける小児の口腔ケアに適用したとの報告は未だない。これまで、造血幹細胞移植を受ける小児を対象とし、口腔からの全身的感染を防止し患児の QOL を向上させるために、3DS を応用した全

身的感染予防プログラムを開発した。しかし、造血幹細胞移植を受ける患児において 3DS を応用した口腔内除菌プログラムの口腔粘膜炎予防効果を評価するには、小児の口腔粘膜の状態変化を記録する適切な評価基準が必要となる。現在、抗がん治療によって生じた口腔粘膜炎の評価基準として NCH (National Cancer Institute) の有害事象共通用語規準が臨床上よく使用されている。しかし、細菌学的・解剖学的・病理学的に大きな差のある小児と成人の口腔を同じスケールで評価するのは適切ではなく、小児を対象とした新たな粘膜評価基準が必要である。また、3DS を応用した口腔内除菌プログラムにより、粘膜障害が軽減する機序についても明らかとはなっていない。

2. 研究の目的

本研究では、化学療法および放射線療法により生じる小児の口腔粘膜炎を重症度によって評価する新しい臨床規準を作成する。

次に、免疫抑制状態におかれた患児を対象として、3DS を応用した口腔内除菌プログラムを実施し、粘膜障害への影響を検討する。

さらに、3DS を応用した口腔内除菌プログラムが口腔粘膜炎の発症を軽減するメカニズムを明らかにする。

また、低年齢で化学療法および TBI をともなう造血幹細胞移植を受けた小児を対象として、永久歯の形成不全を調査し、免疫抑制療法が歯の形成に与える影響を検討する。

3. 研究の方法

実験 1: 小児の口腔粘膜評価基準の検討

広島大学病院小児科にて造血幹細胞移植あるいは化学療法治療 (免疫抑制療法) を受けた小児を対象とした。免疫抑制下にある小児の口腔粘膜状態を記録し、炎症所見および疼痛の有無によってグレード分類した。

実験 2: 3DS の臨床的効果の検討

広島大学病院小児科にて造血幹細胞移植あるいは化学療法治療を受けた小児を対象とした。免疫抑制療法開始前に粘膜評価を行い、PMTC の後、3DS による口腔ケアプログラムを実施した。PMTC と 3DS の両方を行うことができた群を 3DS 群、低年齢による非協力や強い嘔吐感のためにドラッグリテーナーの口腔内保持が困難であった患児には PMTC のみを行い、これを PMTC 群とした。免疫抑制療法を終えた PMTC 後 30 日目に再度粘膜評価を行った。

実験 3: ヒト口腔由来細胞に対する化学療法剤と細菌由来高分子による細胞障害性の検討

実験 2 において、3DS によって最も粘膜障害が軽減した部位である歯肉を由来とする細胞について、化学療法剤と細菌由来高分子による細胞障害性を検討した。

ヒト歯肉由来正常線維芽細胞 Gin-1 を用い、粘膜障害性の強い化学療法剤である L-PAM と、細菌由来高分子としてリポ多糖 (LPS)、およびリポタイコ酸 (LTA) を同時に作用させ、死細胞から放出される乳酸脱水素酵素 (LDH) を指標として細胞障害性を検討した。

実験 4：免疫抑制療法が永久歯の形成に与える影響を調査

神経芽細胞腫 (Stage) と診断され低年齢で化学療法および TBI をともなう造血幹細胞移植を受けた小児を対象として、パノラマエックス線写真にて永久歯の形成不全を調査した。また、健常児の永久歯の形成不全と比較し検討した。

4. 研究成果

実験 1 の結果：小児の新たな口腔粘膜評価基準を作成

NCH 作成の有害事象共通用語規準を基に、頬粘膜、口唇および口角、舌、歯肉について、統計的に妥当かつ臨床的に簡便に使用可能な評価基準 (表 1、図 1) を作成した。

Grade 0	著変なし
Grade 1	粘膜の菲薄化
Grade 2	粘膜の紅斑
Grade 3	斑状潰瘍または偽膜
Grade 4	癒合した潰瘍または偽膜 わずかな外傷で出血
Grade 5	組織の壊死、顕著な出血



図 1 頬粘膜障害

実験 2 の結果：3DS は粘膜障害を軽減する

頬粘膜：3DS 群で有意に粘膜障害が軽減した。 ($P < 0.05$)。 PMTC 群では改善は認められなかった (図 2)。

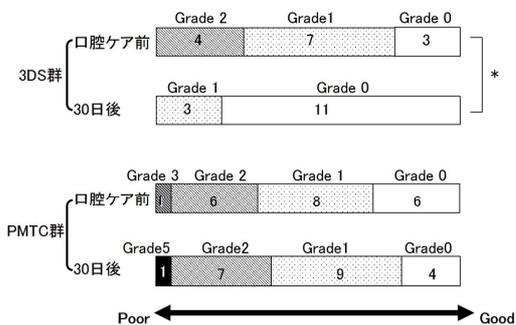


図 2 頬粘膜障害の推移

Willcoxon signed-ranks test, $*P < 0.05$

口唇、口角：3DS 群で粘膜障害が軽減した。 PMTC 群では変化がみられなかった。

舌：3DS 群では変化がみられず、PMTC 群では若干の増悪傾向がみられた。

歯肉：3DS 群では有意に粘膜障害が軽減した ($P < 0.01$)。 PMTC 群では変化はみられなかった。

造血幹細胞移植：3DS 群では、すべての部位で粘膜状態が改善した。 PMTC 群では、頬・舌粘膜で増悪傾向がみられ、口唇・口角・歯肉粘膜では変化がみられなかった。

化学療法：3DS 群では、頬・歯肉粘膜で改善傾向がみられ、口唇・口角・舌粘膜では変化がみられなかった。 PMTC 群では、口唇・口角および舌粘膜で変化はなく、歯肉の粘膜障害は軽減した。

原疾患に対する治療法によって比較すると、化学療法より造血幹細胞移植でより高い粘膜障害軽減効果が示された。

実験 3 の結果：

LPS はグラム陰性菌の細胞壁構成成分であり、骨芽細胞や線維芽細胞の分化に影響を与える。 LTA はグラム陽性菌の細胞壁構成成分であり、細菌の付着因子と考えられている。 LPS および LTA はともに菌体表層から遊離して口腔内に豊富に存在している細菌由来高分子である。

L-PAM の Gin-1 に対する細胞障害性は LPS または LTA の濃度依存的に上昇した (図 3)。 また、L-PAM 単独と比較して、Gin-1 に対する細胞障害性は、LPS または LTA 存在下の方が有意に高かった (図 4)。

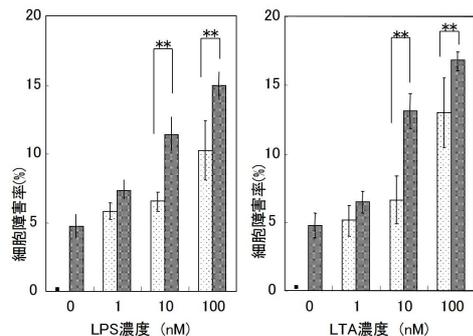


図 3 L-PAM および LPS/LTA による細胞障害率

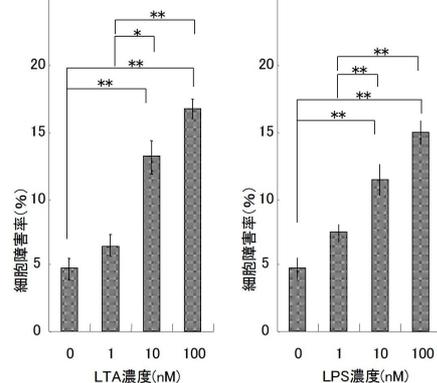


図 4 20 μg/mL L-PAM 存在下において LPS/LTA が細胞障害率に及ぼす影響

** : $p < 0.01$ * : $p < 0.05$ Tukey - Kramer test

化学療法剤 L-PAM はヒト歯肉由来正常線維芽細胞 Gin-1 を障害することが明らかとなった。さらに、細菌由来高分子 LPS および LTA が、相乗的に細胞障害性を高めることが明らかとなり、これらの細菌由来高分子の存在によって secondary の粘膜障害が増悪すると示唆された。

実験 4 の結果：免疫抑制療法により永久歯の形成不全が生じる

神経芽細胞腫の治療を受けた小児では、永久歯の欠損、矮小歯、および形態異常歯が、健常児と比較していずれも非常に高い発生率を示した。小児期に免疫抑制療法をうけて長期生存する例はいまだ少ないが、永久歯の形成不全は TBI をともなう造血幹細胞治療の晩期障害として極めて高頻度に生じることが示された。

小児の顎口腔領域は発育過程にあるため、口腔内合併症に対し成人とは異なるアプローチが必要となる。また、永久歯形成期に免疫抑制療法を実施すると、晩期障害として永久歯の形成不全が高い確率で発生し、著しい歯根短縮による永久歯の早期脱落による咬合不全や多数歯欠損による顎劣成長などの二次的な障害も起こすため、これらを考慮したうえで長期的視野に立った適切な口腔管理と指導が必要となる。永久歯形成期に化学療法や放射線療法、造血幹細胞移植などを受けた患児の顎口腔領域の経過観察、疫学的調査を早急に行い、実態の把握と適切な口腔ケアプログラムの確立が急がれる。

従来、免疫抑制中に重度の粘膜障害をきたすケースは少なくなかった。primary の細胞障害により重篤な粘膜症状が生じた場合、疼痛により含嗽や口腔ケアが困難となる、あるいは絶飲食となって口腔の自浄性が低下するなど、悪循環に陥って secondary の粘膜障害がより重症化してしまう。本研究で実施した 3DS を応用した口腔ケアプログラムは、口腔内除菌を行うことで誤嚥による感染リスクを低減でき、全身的な感染予防に役立つのみならず、口腔合併症が生じる前にこの悪循環を予防できるため、患児の QOL に大きく貢献できると考える。

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 件)

〔学会発表〕(計 件)

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：

種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

新里 法子 (NIIZATO NORIKO)

広島大学大学院・医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：10508104

(2) 研究分担者

なし

研究者番号：

(3) 連携研究者

なし

研究者番号：

(4) 研究協力者

なし