

200936152A

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患克服研究事業

# 進行性下顎頭吸収の診断基準策定と その治療に関する研究

(H21-難治-一般-097)

平成21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者

丸 岡 豊

平成22 (2010) 年 3 月

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

# 進行性下顎頭吸収の診断基準策定と その治療に関する研究

(H21-難治-一般-097)

平成21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者

丸 岡 豊

平成22 (2010) 年 3 月

# 目次

## I. 総括研究報告書

難治性疾患克服研究事業

「進行性下顎頭吸収の診断基準策定とその治療に関する研究」

研究代表者

丸岡 豊 (国立国際医療センター 歯科口腔外科 科長) . . . . . 1

## II. 分担研究報告書

### 1. 臨床研究班:

全国の医療機関に対する疾患の実態把握調査

診断基準確立のためのマーカー探索

CCR1, CCR5 ノックアウトマウスの顎関節の微細構造解析

丸岡 豊 (国立国際医療センター 歯科口腔外科 歯科医長) . . . . . 11

### 2. 基礎班:

#### 1) 骨組織におけるケモカイン受容体の恒常的機能の解析

山本 健二(国立国際医療センター研究所・

国際臨床研究センター センター長) . . . . . 33

#### 2) 炎症性骨代謝異常の機序解明

松島 綱治(東京大学大学院医学系研究科・分子予防医学 教授) . . . . . 39

#### 3) 中枢神経系で CCR5 を転写する細胞の分離と同定

馬目 佳信(東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター

共用研究施設 教授) . . . . . 45

### 3. 生物統計・臨床データ管理班:

進行性下顎頭吸収の診断基準策定を目的とした国際共同研究協力体制基盤整備

叶谷 文秀(国立国際医療センター研究所・

国際臨床研究センター特任研究員) . . . . . 51

## III. 班会議資料一覧 . . . . . 57

## IV. 分担研究者に関する業績一覧 . . . . . 71

## V. 研究成果の刊行に関する業績一覧 . . . . . 97

# I. 総括研究報告書

平成 21 年度 厚生労働科学研究費補助金  
(難治性疾患克服研究事業)

総括研究報告書

進行性下顎頭吸収の診断基準策定とその治療に関する研究  
(H21-難治-一般-097)

研究代表者：

丸岡 豊 国立国際医療センター・戸山病院・歯科口腔外科・科長  
同 研究所・国際臨床研究センター・兼任研究員

分担研究者：

臨床研究班：

小村 健 東京医科歯科大学大学院・医歯学総合研究科・顎口腔外科学分野・教授  
森山 啓司 東京医科歯科大学大学院・医歯学総合研究科・顎顔面矯正学分野・教授  
三森 明夫 国立国際医療センター・戸山病院・膠原病科・科長  
同 第一病棟部・部長  
叶谷 文秀 国立国際医療センター・研究所・国際臨床研究センター・  
山本センター長室・特任研究員  
今井 英樹 日立製作所水戸総合病院・歯科口腔外科・主任医長  
国立国際医療センター・研究所・研究補助員  
大塚 亮 ファミリア歯科矯正・院長  
国立国際医療センター・研究所・研究補助員

基礎研究班：

山本 健二 国立国際医療センター・研究所・国際臨床研究センター・センター長  
松島 綱治 東京大学大学院・医学系研究科・分子予防医学分野・教授  
馬目 佳信 東京慈恵会医科大学・総合医科学研究センター・共用研究施設・教授  
飯村 忠浩 東京医科歯科大学大学院・口腔病理学分野・特任准教授  
上羽 悟史 東京大学大学院・医学系研究科・分子予防医学分野・助教  
藤岡 宏樹 東京慈恵会医科大学・DNA医学研究所・分子細胞生物学研究部・助教  
星野 昭芳 国立国際医療センター研究所・国際臨床研究センター・協力研究員  
東京慈恵会医科大学・総合医科学研究センター・ME研究室・博士研究員

生物統計・臨床データ管理班：

新保 卓郎 国立国際医療センター・研究所・国際臨床研究センター・  
医療情報解析研究部・部長  
山崎 力 東京大学大学院・臨床疫学システム・臨床疫学・特任教授

## 研究概要

進行性下顎頭吸収(Progressive Condylar Resorption : 以下 PCR と略す)は、進行性の下顎頭の形態吸収変化とそれに伴う著明な同部の体積の減少と定義される。具体的には、下顎枝高径の短縮・下顎後退・下顎の時計回りの回転を生ずるため、結果として前歯部の開咬などを呈する病態として顕在化する。顎関節の不調を訴えて来院する患者の中には、上記のような PCR の定義に該当する患者も少なからず存在する。しかしながら PCR の患者は相対的に下顎が小さく後退位にあるため、単なる上顎前突症もしくは下顎後退症と診断され、不適切な歯科治療を受けていることが多いことは一部の臨床医の間で指摘されている。その一方で PCR は、現在までその発症原因は全く明らかではないこと、またその診断基準が確立していないこともあり、歯科医師の中でさえも認知度が低い状態のままである。変形性顎関節症、特発性下顎頭吸収、突発性下顎頭融解症等様々な名称や定義が混在していることもその一因と考えられる。

一方、われわれの研究ではこれまでに2種のケモカイン受容体CCR1、CCR5 (CCR5は新規の薬剤開発の一環としてCD4と共にHIV受容体として機能するケモカイン受容体として知られている) がマウスの骨・軟骨代謝に非常に重要であることを見いだしている。これらケモカイン受容体のノックアウト (KO) マウスでは、野生型に比べて骨密度の菲薄化、骨梁空隙の拡張、皮質骨密度低下等の骨粗鬆症的特徴を有し、その頭蓋骨は下顎枝長の短縮と前歯部開咬を呈していた。さらにCCR1KOマウスでは骨端軟骨は明らかな低形成を示し、全身的に、また下顎頭局所的に顕著な骨・軟骨代謝異常を起こしている可能性があり、かつその形態学的特徴はPCRに酷似していると考えられる。すなわち、本KOマウスは、モデル動物が存在しないために研究が進んでいなかった本疾患の解明のためのブレイクスルーになる可能性がある。

そこで、本研究班をさらに臨床研究班、基礎研究班、生物統計・臨床データ管理班の3班に分け効率的な研究を進めることとした。

臨床研究班の主な役割は、PCR (もしくは臨床的に PCR が疑われる) 患者の登録と血液・尿などの検体および資料採取、ならびに血液・生化学的・尿による臨床検査である。年齢、性別、顔貌所見、口腔内所見、顎関節所見、X線写真などを評価し、また現在治療中の疾患や使用薬、既往歴などを聴取することなどである。またわが国では本症に関する詳細な調査がなされたことがないため、国内の当該医療施設に対して詳細な調査を行い、患者数の把握と診断基準の策定に努めた。さらに難治性疾患研究では、発現機序を解明する基礎・臨床研究の連携と、新診断法・治療法開発の速やかな医療現場への応用が課題となるため、Translational Research の概念を重視し、有限な患者数と研究資源・期間で効力のある国際共同研究協力体制基盤を立ち上げ、日本の国立病院がサイト参加型翻訳研究の国際拠点として整備可能かフィージビリティ評価を試みた。

基礎研究班は、本疾患のモデル動物として期待される CCR1、および CCR5KO マウスに

対しての詳細な解析を行った。すなわち、PCR の病態を炎症性免疫応答の観点から検討することを目的とし、臨床的に骨粗鬆症と相関が報告されている造血幹細胞移植の併発疾患、移植片対宿主病 (GVHD) のマウスモデルにおいて、骨代謝異常の発症機序の解析、また骨以外にもクリティカルな臓器、例えば中枢神経系にどのような影響を及ぼすかという観点から、マウスの中枢神経系細胞を分画化して解析することにより CCR5 を転写する細胞集団の同定を試みた。そして本症とその病態の進行には、骨および軟骨代謝の異常が関連していることがこれまでも想定されていることより、マクロファージの遊走能を規定する免疫系分子である CC 型ケモカイン受容体のうち CCR1 受容体欠損マウスの再検討を行った。

生物統計・臨床データ管理班は、臨床研究班、および基礎研究班の収集したデータ・検査値を総合し、統計学的な解析を行い、研究の設計を再検討した。

本研究は、PCRの病態・原因が特定さえできていない現状を打破する意味で大変意義深い研究である。本研究の実施に際してはヘルシンキ宣言および厚生労働省の臨床研究・疫学研究に関する倫理指針等の趣旨を尊重し、遵守する。

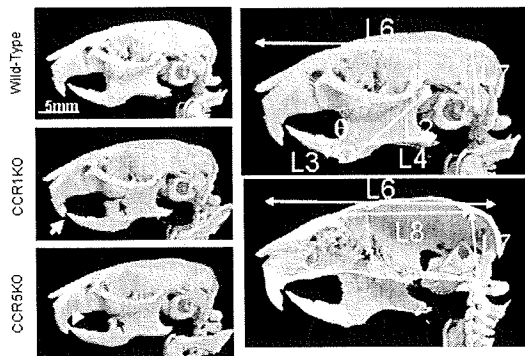
## A:研究目的

顎関節の不調を訴えて来院する患者の中には進行性下顎頭吸収(PCR)の患者も少なからず存在する。PCRは進行性の下顎頭の形態吸収変化とそれに伴う著明な同部の体積の減少と定義され、結果として前歯部開咬などを呈する病態であるが、現在までその発症原因は全く明らかではない。またPCRの患者は相対的に下顎が小さく後退位にあるため、単なる上顎前突症もしくは下顎後退症と診断され、不適切な歯科矯正治療を受けていることが多い。これらに加えて顎矯正手術による一期的な下顎の前方移動に伴う下顎頭への負担過重なども発症原因として指摘されている。

一方、AIDS に対する化学療法は格段の進歩を遂げたが、薬剤耐性 HIV の出現が大きな問題となっている。新規の薬剤開発の一例として HIV の共受容体として機能しているケモカイン受容体 CCR5 に対するアンタゴ

ニストの研究が進められており、CCR5 阻害薬の持つ従来薬とは異なる作用機序が耐性 HIV 治療に役立つと期待されている。CCR5 遺伝子欠損(KO)マウス、ならびに CCR5 とリガンドを共有する CCR1 の KO マウスの再検討により、これらのマウスが骨粗鬆症の病態とヒト PCR 症例と類似した顎関節異常を持つことを発見した (写真参照)。つまりケモカインが生理的な骨代謝回転において重要な機能を果たすことが判明した。これにより、すでに CCR5 拮抗薬が実用化され HIV の治療は大きく前進することが予想されるが、その代償として骨粗鬆症や PCR 発症のリスクが生じる可能性がある。これは AIDS 患者の QOL を考える上では大問題である。

PCR発症患者からの下顎頭軟骨や骨、顎関節包液の採取分析は現時点では倫理的にも技術的にも非常な困難を伴う。そのため患者の尿中・血中における骨代謝関連項目(骨吸収・骨形成マーカー)並びにケモカインを測定し比較検討することで、PCR患者にお



ける病態とケモカインの関与の有無を把握することを目標とする。生体内では多くの物質の相互作用が営まれているためタンパクレベルの調査には限界があり、長期的目標としては遺伝子を用いた研究が必要となるであろう。尿中・血中マーカーによる PCR 判定技術の確立は、PCR がその原因さえ特定できていない現状を打破する意味では、大変意義深い研究であると考えられる。

臨床的には患者数の把握と診断基準の策定を最大の目的とし、未だ行われていないわが国での本症のアンケート調査を行い、患者数の把握、本症患者への対処法などの実態調査を行った。

一方、基礎研究面より 2 種のケモカイン受容体 CCR1、CCR5 の KO マウスを骨・軟骨組織の機能・形態学的解析、骨組織の免疫学的解析、および中枢神経系における解析という 3 つの異なる側面より詳細に検討した。

本疾患が炎症随伴性であるかどうかも含めて臨床の分子生物学的な病態について基礎的に解析する研究はほぼ皆無であった。また本来なら難治性疾患研究において代替手段となりうる動物実験に関しても、当該疾患と類似の兆候を示すような適当な病態モデル動物が存在しなかったため、咬合異常を生じる病態の分子生物学的理解はなされていない。われわれはマクロファージの遊走能を

規定する免疫系分子である CC 型ケモカイン受容体のひとつである CCR1 が、マクロファージのみならず同じマクロファージ系に起源を持つ破骨細胞の機能にも関与しているという仮説に基づき、CCR1 KO マウスを用いてケモカイン受容体の破骨細胞ならびに骨芽細胞における機能を解析した。また炎症性骨代謝異常の病態形成機序を解明することを目的として、CD4 依存的な MHC class II 不適合 GVHD モデルを作成し、マウス GVHD モデルにおける骨代謝異常の詳細と発症の細胞学的機序について検討を行った。そして CCR1、CCR5KO マウスの顎関節の微細構造に関しても形態学的観察を行った。

また HIV 感染で一次的に脳症として損傷を受ける中枢神経系でも進行性下顎頭吸収に関連してケモカイン関連因子攪乱が起きていることが予想されるため、中枢神経系での病変の有無と進行性下顎頭吸収との関連を明らかにするため CCR5 を発現している細胞を同定、解析した。

難治性疾患研究では、発現機序を解明する基礎・臨床研究の連携と、新診断法・治療法開発の速やかな医療現場への応用が課題となるため、本計画の検討に当たり、Translational Research の概念を重視し、有限な患者数と研究資源・期間で効力のある国際共同研究協力体制基盤を立ち上げ、日本の国立病院がサイト参加型翻訳研究の国際拠点として整備可能かフィージビリティ評価を試みた。

## B:研究方法

### 1. PCR 実態調査:



全国の大学、病院を中心とした歯科口腔外科診療施設約 500 施設に主に選択式のアンケート依頼用紙を送付し、インターネット経由にて回答を得た。

## 2. 血液、および尿検体からのマーカー検索：

国立国際医療センターにおいて、当科に来院し PCR と診断された患者からインフォームドコンセントを得たのち、血液および尿の検体を採取した。PCR 患者の尿中の骨粗鬆症のバイオマーカー分子と、血中の典型的骨代謝マーカー、同じく血中のケモカイン基質数種の濃度についても測定した。

## 3. CCR1, CCR5KO マウスの顎関節の微細構造解析：

ホルマリンにて固定後、顎関節周囲を切り出し、光学顕微鏡的に観察した。

## 4. 骨形態解析：

CCR1 欠損マウスならびに対照群となる野生型マウスの骨密度ならびに骨微細構造の変化について、bone morphometric analysis により定量的に評価した。

## 5. 破骨細胞、および骨芽細胞の機能解析：

CCR1 欠損マウスならびに対照群となる野生型マウス骨髄より分離回収した細胞かを多核化・融合した成熟破骨細胞へ分化させた。また骨髄由来 mesenchymal stromal 細胞を採取し、骨芽細胞へ分化させた。それぞれの細胞を機能解析実験に供した。

## 6. マウス GVHD モデルにおける骨代謝異常の詳細と発症の細胞学的機序について検討：

MHC 完全不適合 GVHD モデルを作成したのち、CD4 依存的な MHC class II 不適合 GVHD モデルを作成した。TCD BM のみを移植したマウスを非 GVHD コントロールとした。

それらのマウスを用いて病理学的解析、骨芽細胞の分化に関わる遺伝子の発現解析、骨形態解析、抗 CD4 抗体治療実験を行った。

## 7. 中枢神経系で CCR5 を転写する細胞の分離と同定：

CCR5KO マウスの頭蓋内の細胞と比較するために野生型 C57BL マウスの脳内の細胞を分画化してそれぞれの細胞から RNA を抽出、逆転写酵素で相補鎖 DNA を合成してケモカインおよびケモカインレセプターの mRNA の転写を定量的 PCR で定量した。

## 8. 研究協力者国際ネットワーク立ち上げ：

国立国際医療センター・国際臨床研究センターのチームによる CCR5 プレゼンテーションを申し出、PCR 診断法の開発の必要性への賛同が確認された場合、国際コンソリウムへの参加を依頼、本人の意思にて所属機関の研究参加同意を得た。当該国の臨床研究倫理基準に基づく倫理審査を行えるよう大使館、他コンサルタントを通じてプロトコル翻訳のコーディネートを行う。

## C:研究結果

### 1. PCR 実態調査：

回収率は 17% にすぎなかった。男性 8 例、女性 89 例、記録照合中の症例なども含め現

時点で性別不明が 66 例の合計 163 症例が登録された。患者年齢分布は 20 代が最も多く、50 代以上は再び増加する二相性の分布を示した。

また多くの医療機関で、その対処に苦慮しており、系統的な診断や治療がほとんどなされていない現状を浮き彫りにした。

## 2. マーカー検索：

診断基準に関しては、少数患者からの血液検体を解析した結果、骨粗鬆症を示唆する検査値が高い傾向を示し、またケモカインの一種である RANTES が基準値から大幅に変動していた。

## 3. 顎関節の微細構造解析：

モデルマウスにおける下顎頭軟骨の配列の乱れと関節円盤の菲薄化がみられたが炎症を積極的に示唆する所見は得られなかった。

## 4. 骨形態解析：

CCR1KO マウスでは対照群となる野生型マウスに比して、典型的な骨組織の低形成であることが判明した。しかし、骨端板など骨成長末端における軟骨配列に著しい構造の乱れが観察されるなど、病理学的には単なる骨組織の低形成では説明できない組織像も観察された。

## 5. 破骨細胞、および骨芽細胞の機能解析：

一方、培養破骨細胞においても、CCR1KO マウス由来細胞では、形態学的にも機能的にも破骨細胞機能不全が観察された。すなわち CCR1KO マウス由来細胞では、多核融合破骨細胞の形成不全が観察されるのみならず、骨融解に必要な酵素群の産生が低下してい

た。したがって CCR1KO マウスでは、主として骨形成因子である RANK-RANKL 系の発現が抑制されることで破骨細胞ならびに骨芽細胞機能がともに低下し、典型的な骨代謝回転の低形成、つまり「造れない、壊せない」という状況に陥っていることが明らかとなった。

## 6. マウス GVHD モデルにおける骨代謝異常の詳細と発症の細胞学的機序について検討：

骨芽細胞は GVHD 誘導早期に消失すること、また GVHD 発症に伴う骨芽細胞障害には CD4<sup>+</sup> T 細胞が重要な役割を果たすことが示唆され、GVHD は骨芽細胞分化の極めて早い段階を抑制することが明らかとなった。さらに骨芽細胞の障害を機能的にも検証するため、骨形態計測により GVHD 誘導時の骨代謝を解析したところ、GVHD 発症マウスでは骨形成が完全に抑制されていることが明らかとなった。つまり GVHD を発症した後であっても、CD4<sup>+</sup> T 細胞除去により骨芽細胞障害を治療できることが明らかとなった。

## 7. 中枢神経系で CCR5 を転写する細胞の分離と同定：

マウス脳から分離された細胞はそれぞれのマーカー別に解析を行い再現性の確認を行ったが、CCR5 を転写しているのは CD11b 陽性の細胞であり、生細胞の 90% 以上が CD45<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>Ly-6C<sup>lo</sup>Gr-1<sup>lo</sup> の免疫表現型を持つ均一な細胞集団であった。

頭蓋内の細胞で CCR5 を発現しているのは CD11b 陽性ミクログリアであると推定された。進行性下顎頭吸収において CCR5 の

関与が疑われることに続き、頭蓋内でマイクログリアのみが CCR5 を転写していることが判明した。ただし CCR5 はフローサイトメトリーで解析した結果では陰性であり、抗体で検出した場合タンパクの発現としてはほとんど認められなかった。

#### 8. 研究協力者国際ネットワーク立ち上げ:

研究協力者国際ネットワークとしては、アメリカ合衆国 (Harvard 大学、マサチューセッツ総合病院、StonyBrook 歯科大学)に加え、CCR5Δ32 が一定の割合で存在し、かつ人類遺伝学上の人口構成が安定しているチェコ共和国を欧州における第一の連携対象国家として選択し、プラハ=カレル大学第三医学部附属病院矯正歯科、および第一医学部附属口腔病学院にて、当該患者に対する CCR5 と CCR1 の共通リガンドである CCL5 を同病院の検査項目に加える同意を得た。

### D:考察

#### (1) 達成度について

われわれの研究における臨床的な最終到達目標は、採血および採尿という簡便な手段のみで PCR の有無や発症の可能性を客観的に診断することができる指標を確立すること、ならびに概念が漠然として歯科医師でも認知度が低い PCR の診断を確定させ、広く難病として周知を図ること、の 2 点である。

実態把握は、全国の歯科口腔外科診療施設にアンケートを実施したが、有効回収率は 20%にも満たなかった。この回収率の低さにはいくつかの原因が考えられるが、下顎頭に変形をきたす疾患として錯綜した名称や定義が混在していることであり、結果として歯科医の中でも認知度が決して高くないこと

が原因であろう。

しかし、そこから得られた情報は極めて有用であった。男性 8 例、女性 89 例、現時点で性別不明が 66 例の合計 163 症例が登録されたが、このデータは海外での報告をわが国においても裏付けるものであった。

患者年齢分布は二相性の分布を示した。若年例は合併疾患もなく特発的であるのに対し、50 代以降は自己免疫疾患などの併発例が多くステロイド等薬剤の長期服用例も目立つ。つまり本研究により、従来 PCR として漠然と解釈されていた病態が 2 種類に大別される可能性が示唆された。

また多くの医療機関で、咬合の違和感等のため顎関節症や顎変形症と診断されるも、本症に対し系統的な診断や治療がなされていないこと等を明らかにした。今後、まずは PCR という病態があることを広く認知されるよう周知を図る必要があると思われる。

診断基準に関しては、少数患者からの血液検体を解析した結果、骨粗鬆症を示唆する値を示し、またケモカインの一種である RANTES が基準値から大幅に変動する等、本病態を特徴づける検査値を見出し、PCR の病態を判定する有力なバイオマーカーとなり得る可能性がある。

また、ケモカイン遺伝子 KO マウスにおいても新たな知見が得られた。

マクロ形態学的に確認されていた顎関節異常と、ヒト PCR との病態を関連付けることができる可能性があるデータが得られたことの意義は非常に大きい。また、免疫系細胞の遊走を制御するケモカインが、マウスの生理的な骨代謝回転においても機能していることを、*in vitro*ならびに *in vivo*において証明することができた。また、従来予想し

ていた破骨細胞の分化・成熟のみならず、骨芽細胞の分化においてもケモカインが機能を持つことを明らかとした。

中枢神経系の研究より、脳の炎症をつかさどるミクログリアが CCR5 を転写していることが判明したため本症では脳内でのケモカインレセプターやリガンドの検索が疾患の解明のために有用であろうと予想された。

炎症性の骨代謝異常を呈する GVHD マウスモデルを解析した結果、活性化 CD4<sup>+</sup> T 細胞が骨芽細胞の分化過程を極めて早い段階で抑制することで、骨形成が抑制されることを明らかとなった。さらに骨芽細胞障害に決定的な役割を果たす CD4<sup>+</sup> T 細胞を除去することにより、骨芽細胞障害を治療可能であることを示した。つまり、本研究成果は炎症性の骨形成抑制の発症機序に関する細胞学的基盤を確立するものであり、炎症性の骨代謝異常の診断、予防、治療法を開発する上で重要な知見を与えるものと考えられる。

## (2) 成果の学術的・国際的・社会的意義について

本研究において、当初の仮説どおりケモカインが PCR の有無や発症の可能性を客観的に診断することができる指標となる可能性を指摘することができた。これは、採血および採尿という低侵襲かつ簡便な手段で患者状態を把握できるという点で社会的意義も大きい。今後、咬合異常を生じる病態の分子生物学的な理解を進める上で学術的意義が大きいばかりではなく、ケモカインを通じてマウス病態と本疾患病態との関連性を明らかにすることで、治療方法や時期を含めた客観的判断材料が提示されることとなり、ひいては患者 QOL を改善することも期待される。

またこの測定法によって、概念が漠然としていて歯科医師でも認知度が低い PCR の診断を、より客観的な指標を用いて確定させる判断材料のひとつとなる可能性を秘めている。

これらの結果により、PCR のクライテリアを確立し広く難病として周知を図るための基盤が成立したことは、非常に意義深い。また二相性の分布、すなわち若年症例における特発性と、50 代以降の症例における自己免疫疾患等との併発との混在という本疾患の病態を把握する上で重要な知見を得た。

われわれは前述の通り、少なくともマウスにおいてはケモカイン受容体 CCR1 が骨代謝において重要な破骨細胞ならびに骨芽細胞の両細胞の分化に重要な機能を有することを明らかにした。すなわちケモカインは破骨細胞ならびに骨芽細胞において生理的な骨代謝回転を維持する調節因子、すなわち骨代謝においてその存在が予見されていた「骨カップリング因子」として機能していることを解明したことは、骨代謝回転を理解する上で学術的にも重要な発見である。これまで骨代謝疾患領域では、M-CSF あるいは RANK-RANKL 欠損系のように大理石病様を呈する動物モデルや、卵巣摘出などの手段で人為的に骨粗鬆症を起こさせるなど骨粗鬆症モデルとなる動物モデルは存在するが、低形成モデル、あるいはヒト PCR 類似の開咬など本疾患と類似の兆候を示すような適当な病態モデル動物はこれまで存在しなかった。今後、咬合異常を生じる病態の分子生物学的な理解を進める上で学術的意義は大きいばかりではなく、マウス病態と本疾患病態との関連性を明らかにすることで、患者 QOL を改善することも期待される。

しかしマウスなど齧歯動物とヒトでは、ケモカイン受容体の遺伝子には対応関係が認められるものの、ケモカインリガンドの遺伝子構成に大きな違いがあることが知られている。したがってこの情報をもとにヒトにおける骨担当ケモカインの探索を実施し、本疾患におけるケモカインの関与などの病態解明への糸口を探る。また、CCR1 と相同性が高く、MIP-1 $\alpha$ /CCL3、MIP-1 $\beta$ /CCL4、RANTES/CCL5 など複数の CCR1 リガンドを共有する CCR5 受容体の骨代謝における機能についても検討する必要がある。当該動物を骨代謝不全モデルマウスとして活用し、PCR のみならず他の骨代謝性疾患や近年深刻な問題と化しているビスフォスフォネート剤関連顎骨壊死についても、予防解決に繋がることを期待される。

PCR が炎症性疾患であるか、臨床病態のさらなる解明が必要などではあるが、本研究成果は活性化 CD4<sup>+</sup> T 細胞が骨形成を抑制しうることを示しており、PCR の臨床病態を解明する上で検索すべき指標を提供するものと考えられる。関節リウマチをはじめとして、炎症性の骨代謝異常に起因する疾患の多くが骨吸収の観点から解析されてきた。近年免疫システムと骨代謝が密接な関連を持っていることが明らかにされ、“骨免疫学”という新たな学術分野が発展する中で、国際的にも独創性の高い本研究成果は大きな貢献をなすものと考えられる。

もともと HIV 研究のために作成されたこの KO マウスの解析より、進行性下顎頭吸収において CCR5 の関与が疑われることに続き、頭蓋内で脳内での炎症に際して大きな役割を担うミクログリアのみが CCR5 を転写していることが判明した。そのため本症では

頭蓋内のケモカインの異常が引き起こされている可能性も考えられた。

2010 年 3 月現在まで本研究に対する参加同意者は、国立国際医療センター戸山病院にて 8 名である。これは PCR 診断率の低さを反映しており、わが国のみでの臨床研究では参加者数が十分ではないことが容易に想定される。したがって、参加者数の増大と国際比較を目的として、国外における状況を把握する目的の国際共同研究の依頼をおこなってきた。

2010 年 3 月までに、アメリカ合衆国 (Harvard 大学、マサチューセッツ総合病院、Stony Brook 歯科大学)、中華人民共和国 (中国科学院感染症研究所)、メキシコ合衆国 (国立感染症研究所病院病理検査部)、チェコ共和国 (カレル大学第一医学部) などで、すでに国際共同研究の同意を得ており、それぞれの国での倫理委員会支援等、国際医療センター戸山病院を拠点とした本新分野の研究基盤の立ち上げ、整備を粛々と推進した。異なった遺伝子型を持つ患者を海外でも確保したことで、統計上有意な N 数を確保するのみならず、人類遺伝学上非常に重要な CCR5 $\Delta$ 32 についての考察も、本国際コンソリウムにより可能になった。

今後も人類の多様な遺伝子型に対応できるよう、国際共同研究を依頼する施設数を増加するよう検討している。

世界的にも本疾患に対する診断・治療法は明確なエビデンスをもって示されていない。われわれの調査でも白色人種の調査にて報告されていた PCR の病態と類似の結果を黄色人種においても得た。またわれわれをネットワークの中心として、米国・欧州等国外の

複数の研究機関と研究協力する体制を確立させた。本研究によって示されたデータを基に、PCR はわが国から再定義・再発信された新たな疾患概念として国際的に認知されつつあることは、国際的意義が大きいと考える。

#### **E:健康危機情報**

特になし。

#### **F:研究発表**

論文発表一覧および学会発表は分担者の項を参照。

#### **G: 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）**

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

## II. 分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）分担研究報告書

進行性下顎頭吸収の診断基準策定とその治療に関する研究

(H21-難治-一般-097)

全国の医療機関に対する疾患の実態把握調査

診断基準確立のためのマーカー探索

CCR1, CCR5 ノックアウトマウスの顎関節の微細構造解析

臨床研究班：

研究代表者：丸岡 豊 国立国際医療センター・戸山病院・歯科口腔外科・科長  
(国立国際医療センター・研究所・兼任研究員)

分担研究者：小村 健 東京医科歯科大学大学院・顎口腔外科学分野・教授

分担研究者：森山 啓司 東京医科歯科大学大学院・顎顔面矯正学分野・教授

分担研究者：三森 明夫 国立国際医療センター戸山病院・膠原病科・科長

分担研究者：今井 英樹 日立製作所水戸総合病院・歯科口腔外科・主任医長  
(国立国際医療センター・研究所・研究補助員)

分担研究者：大塚 亮 ファミリア歯科矯正・院長  
(国立国際医療センター・研究所・研究補助員)

基礎研究班：

分担研究者：飯村 忠浩 東京医科歯科大学大学院・口腔病理学分野・特任准教授

生物統計・臨床データ管理班：

分担研究者：新保 卓郎 国立国際医療センター・研究所・国際臨床研究センター・  
医療情報解析研究部・部長

分担研究者：山崎 力 東京大学大学院・臨床疫学システム・臨床疫学・特任教授



## 研究要旨

進行性下顎頭吸収(Progressive Condylar Resorption : 以下 PCR と略す)は、進行性の下顎頭の形態吸収変化とそれに伴う著明な同部の体積の減少と定義される。具体的には、下顎枝高径の短縮・下顎後退・下顎の時計回りの回転を生ずるため、結果として前歯部の開咬などを呈する病態として顕在化する。顎関節の不調を訴えて来院する患者の中には、上記のような PCR の定義に該当する患者も少なからず存在する。しかしながら PCR の患者は相対的に下顎が小さく後退位にあるため、単なる上顎前突症もしくは下顎後退症と診断され、不適切な歯科治療を受けていることが多いことが一部の臨床医の間では指摘されている。その一方で PCR は、現在までその発症原因は全く明らかではないこと、またその診断基準が確立していないこともあり、歯科医師の中でさえも認知度が低い状態のままである。変形性顎関節症、特発性下顎頭吸収、突発性下顎頭融解症等様々な名称や定義が混在していることもその一因と考えられる。

そこで本研究では、未だ行われていない我が国での本症のアンケート調査を行い、患者数の把握、本症患者への対処法などの実態調査を第一の目標とした。また当科に来院し、いわゆる PCR と診断された患者からインフォームドコンセントを得たのち、血液および尿の検体を採取し、基礎研究班が解明した血液、尿中の数種のマーカーを用いた比較試験を行い、PCR 判定としての可能性を検索した。

アンケート調査により、従来から言われていた PCR は女性患者が多いという説を裏付ける結果が得られ、単純計算で最低でも 1000 余名の患者の存在が示唆された。また患者年齢分布は、おおむね合併疾患もなく特発的な若年例と、50 代以降の自己免疫疾患併発例との二相性の分布を示していた。また少数患者で実施された比較試験の結果、PCR 患者においては、典型的骨粗鬆症のバイオマーカーである NTX や DPD が高値の傾向を示し、またケモカインの一種である RANTES が基準値から大幅に変動していた。

これらの結果から、PCR 患者は骨粗鬆症など潜在的な骨代謝異常を有すること、またケモカインなど従来は主として炎症に関与すると考えられてきた免疫系分子が骨代謝など生理的代謝活動においても機能を有しており、PCR など非炎症性の発症にも深く関与している可能性が高いという知見が得られた。

疫学調査は、欧米人に多い本疾患と本邦との病態比較を目的として、米ハーバード大学、MGH、チェコ・カレル大学など国外の複数機関と国際的共同研究組織を立ち上げ、研究協力体勢が準備された。本研究によって示されたデータ等は、すでにゴードンカンファレンス等国際会議において関心を持たれており、今後さらなる国際研究参加機関の増加を見込んでいる。本研究事業により、PCR は我が国から再定義・再発信された新たな疾患概念として国際的に認知されつつある。

## A:研究目的

進行性下顎頭吸収(Progressive Condylar Resorption : PCR)は、進行性の下顎頭の形態吸収変化とそれに伴う著明な同部の体積の減少と定義される原因不明の疾患である。しかし、PCR は発症原因、診断基準の不明瞭さなどから臨床医のあいだでも認知度は必ずしも高くない。上述の定義から考えれば、PCR の患者は相対的に下顎が小さく後退位にあることが想定されるため、単なる上顎前突症もしくは下顎後退症と診断されている可能性、もしくは顎関節に不調を訴えることから顎関節症と診断されている可能性も高い。そこで患者数の把握と診断基準の策定を目的とし、未だ行われていない我が国での本症のアンケート調査を行い、患者数の把握、本症患者への対処法などの実態調査を第一の目標とした。

一方、我々の研究ではこれまでに2種のケモカイン受容体 CCR1、CCR5 のノックアウト (KO) マウスを解析した。KO マウスでは野生型に比べて骨密度の菲薄化、骨梁空隙の拡張、皮質骨密度低下等の骨粗鬆症的特徴を有し、その頭蓋骨は下顎枝長の短縮と前歯部開咬を呈していた。さらに CCR1KO マウスでは骨端軟骨は明らかな低形成を示し、全身的に、また下顎頭局所的に顕著な骨・軟骨代謝異常を起こしている可能性があり、かつその形態学的特徴は PCR に酷似していた。以上の事実から、PCR 発症におけるケモカインの関与を念頭に置き、KO マウスの顎関節症状の詳細な検討を行った。

また、患者の尿中および血中のいわゆる典型的な骨吸収・骨形成のマーカ―、ならびに基礎研究班が解明した血液、尿中の数

種のマーカ―およびケモカイン基質を調査し、正常値に対して比較することで、上記の分子群を客観的 PCR 判定のための診断マーカ―として活用できる可能性の有無を検討した。

## B:研究方法

### 1. PCR 実態調査 :

全国の大学、病院を中心とした歯科口腔外科診療施設約 500 施設にアンケート依頼用紙を送付し、国立国際医療センター戸山病院インターネット上で回答を得る方式とした。アンケートの設問は、選択式のものを主とし、また最大3例まで記載してもらい、それ以上の症例数がある施設は追加のアンケートファイルを送付することとし、できるだけ回答者のための便宜を図った(別紙)。調査は現在も継続中である。

### 2. 血液、および尿検体からのマーカ―検索 :

国立国際医療センターにおいて、当科に来院し PCR と診断された患者からインフォームドコンセントを得たのち、血液および尿の検体を採取した。PCR 患者の尿中 DPD、NTX、CTX など骨粗鬆症のバイオマーカ―分子と、血中 TRACP、NTX、CTX、骨型アルカリフォスファターゼ、オステオカルシンなど典型的骨代謝マーカ―を測定する。骨代謝マーカ―については、骨折リスクなど、骨粗鬆症において保険適応されている一般的な骨量減少・骨折リスクのカットオフ値と比較検討、また同じく血中のケモカイン基質である MIP-1 $\alpha$ 、MIP-1 $\beta$ 、および RANTES の濃度についても測定した。これらの指標については検

査標準値が規定されていないことから、健康人血清を採取し、この平均値と比較した。

(倫理面への配慮) ヘルシンキ宣言、および厚生労働省の臨床研究に関する倫理指針、疫学研究に関する倫理指針、厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針等の趣旨を尊重し、医学倫理に配慮している。

- ① 研究の対象とする個人の人権の擁護：
- ② 被験者に理解を求め同意を得る方法：
- ③ 研究によって生じる個人の不利益と医学上の利益または貢献度の予測：
- ④ 検体提供の任意性と撤回の自由及び対価、検体使用の制限：
- ⑤ 第三研究機関への試料の提供の可能性：

等について文書を用い説明し、インフォームドコンセントを得た。本研究は国立国際医療センター倫理委員会(一般)において承認済みである。

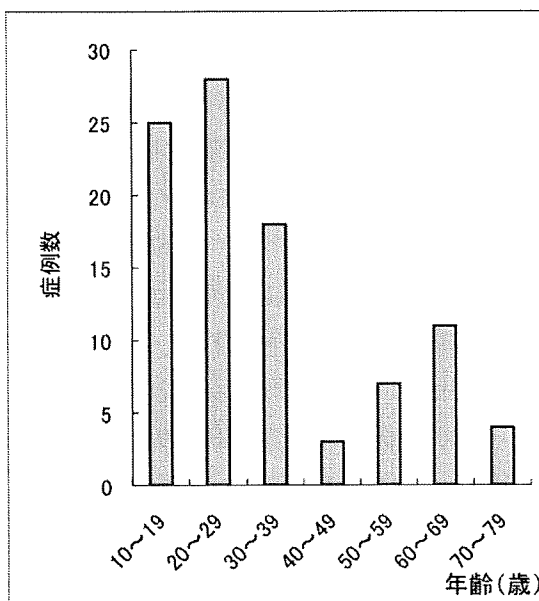
### 3. CCR1, CCR5 ノックアウトマウスの顎関節の微細構造解析：

ホルマリンにて固定後、顎関節周囲を切り出し、前頭断にてスライスし、アルシアンブルー、およびヘマトキシリン・エオジン染色を行い観察した。

## C:研究結果

### 1. PCR 実態調査：

実態把握は、全国の歯科口腔外科診療施設 546 施設にアンケートを行い、92 施設から回答を得、回収率は 17%であった。現在でも散発的に回答が寄せられているため、調査を継続している。男性 8 例、女性 89 例、資料が古く詳細が確認できない症例、担当医の不在等の理由で詳細が不明な症例、記録照合中の症例も含め現時点で性別不明が 66 例の合計 163 症例が登録された。患者年齢分布は 20 代が最も多く、



次いで 10 代、30 代となり、40 代では少ないが 50 代以上は再び増加する二相性の分布を示した。

50 代以降では 21 症例中 12 例が関節リウマチ等の自己免疫疾患に罹患しており、ステロイドを服用していた。

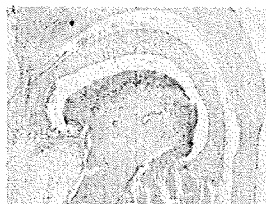
また多くの医療機関で、咬合の違和感等のため顎関節症・顎変形症と診断されるも、その対処に苦慮しており、系統的な診断や治療がほとんどなされていない現状を浮き彫りにした。

## 2. マーカー検索：

診断基準に関しては、少数患者からの血液検体を解析した結果、骨粗鬆症を示唆する NTX や DPD が高値の傾向を示し、またケモカインの一種である RANTES が基準値から大幅に変動していた。

## 3. 顎関節の微細構造解析：

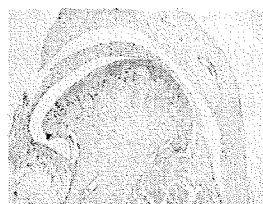
モデルマウスにおける骨組織・関節の微細構造を解析し、特に顎関節では下顎頭軟骨の配列の乱れと関節円盤の菲薄化がみられたが炎症を積極的に示唆する所見は得られなかった。



野生型



CCR1KO



CCR5KO

## D:考察

### (1) 達成度について

我々の研究における臨床的な最終到達目標は、採血および採尿という簡便な手段のみで PCR の有無や発症の可能性を客観的に診断することができる指標を確立すること、ならびに概念が漠然として歯科医師でも認知度が低い PCR の診断を確定さ

せ、広く難病として周知を図ることの2点であった。

実態把握は、全国の歯科口腔外科診療施設にアンケートを実施した。なお、調査は現在においても継続中である。しかし有効回収率は 20%にも満たなかった。この回収率の低さにはいくつかの原因が考えられる。これは、下顎頭に変形をきたす疾患として変形性顎関節症、特発性下顎頭吸収、突発性下顎頭融解症等様々な名称や定義が混在していることである。それぞれの定義は錯綜しており、たとえば特発性下顎頭吸収は明らかに違う疾患であると思われる場合もあり、そのように診断されている場合は本研究のアンケートにおける症例数は「0」となる。また本疾患は患者自身が無自覚のことも多く、X線写真を行わないと発見されにくいという点もある。また咬合の不調和を主訴として、口腔外科よりも矯正歯科を受診する患者も少なくないことが考えられる。このように歯科医の中でも認識度が決して高くないことが関心の低い原因であろう。

しかし、そこから得られた情報は極めて有用であった。男性 8 例、女性 89 例、現時点で性別不明が 66 例の合計 163 症例が登録されたが、従来からの、海外での文献にていわれていた女性患者が多いという説を我が国においても裏付けるものであり、単純計算で最低でも 1000 余名の患者の存在が示唆された。

患者年齢分布は二相性の分布を示した。若年例は合併疾患もなく特発的であるのに対し、50 代以降は自己免疫疾患などの併発例が多くステロイド等薬剤の長期服用例も目立つ。つまり本研究により、従来