

- ・ がん
- ・ その他

薬剤の服用について

なし 不明

あり

- ・ ステロイド
- ・ ビスフォスフォネート
- ・ その他

症例3についてお伺いします。それはどのような患者さんでしたか？

性別： 男 女

年齢層： 0～9歳 10～19歳 20～29歳 30～39歳 40～49歳

50～59歳 60～69歳 70～79歳 80歳以上

主訴、または臨床症状： 咬合の違和感・不調和 顎関節の疼痛

なし その他

初診時診断： 顎関節症 顎変形症 その他

罹患側： 右 左 両側

行った治療： とくに治療せず 顎関節症に準ずる治療 顎矯正手術

その他

基礎疾患： なし 不明

あり

- ・ 骨粗鬆症
- ・ 呼吸器系疾患
- ・ 自己免疫系疾患
- ・ 内分泌系疾患
- ・ 循環器系疾患
- ・ 腎・排泄系疾患
- ・ 消化器系疾患
- ・ 血液系疾患
- ・ がん
- ・ その他

薬剤の服用について

なし 不明

あり

- ・ ステロイド

- ・ ビスフォスフォネート
- ・ その他

もし可能であれば、症例4以降もご記入ください。

(選択すれば、症例4以降も同じように記入ができるようにする)

アンケートは以上です。ご協力ありがとうございました。

最後に、

記入者の所属医療機関：()

記入者名：

記入者の連絡用メールアドレス：

※具体的な症例に関して、今後個別に連絡を差し上げることがあります。

アンケートの回答法

この度はアンケートにご協力いただきましてありがとうございます。ご多忙中誠に恐縮ですが、11月末日までにご回答いただけるいと幸いです。

手順

1. まずはわれわれのウェブページにアクセスしていただく必要があります。

(1)直接入力いただく場合:

<http://www.imci.go.jp/sogoannai/sikakouku/index.html> と入力ください。

(2)もしくは「国立国際医療センター」→「戸山病院のご案内」→「各診療科案内」→

「**歯科・口腔外科**」でも下記(図1)のページを開くことができます(例はマッキントッシュで示しています)。

図1

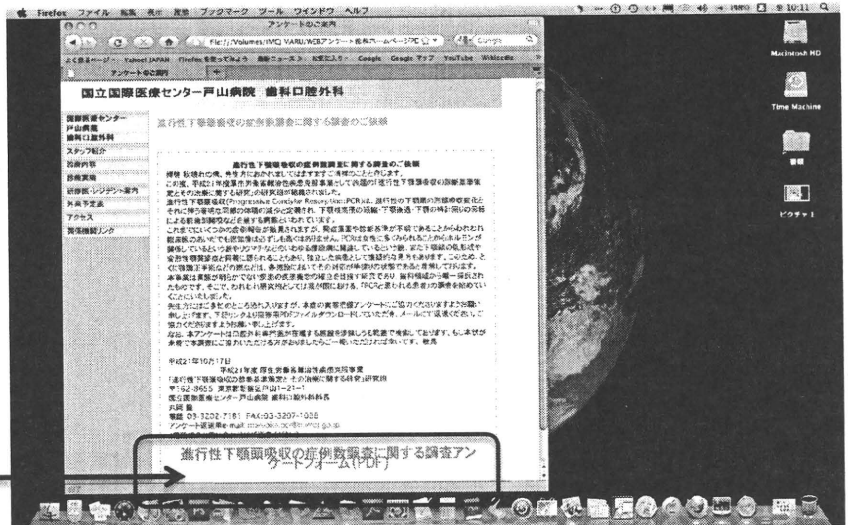
ここをクリックしてください



2. 図1に示した「進行性下顎頭吸収の症例数に関する調査の御依頼」をクリックしてください。

図2

ここをクリックしてください



3. 図2に示した「進行性下顎頭吸収の症例数に関する調査アンケートフォーム(PDF)」をクリックしてください。

4. ブラウザやOSによって表示画面が異なりますが、図3にお示したファイルをダウンロードしてください。

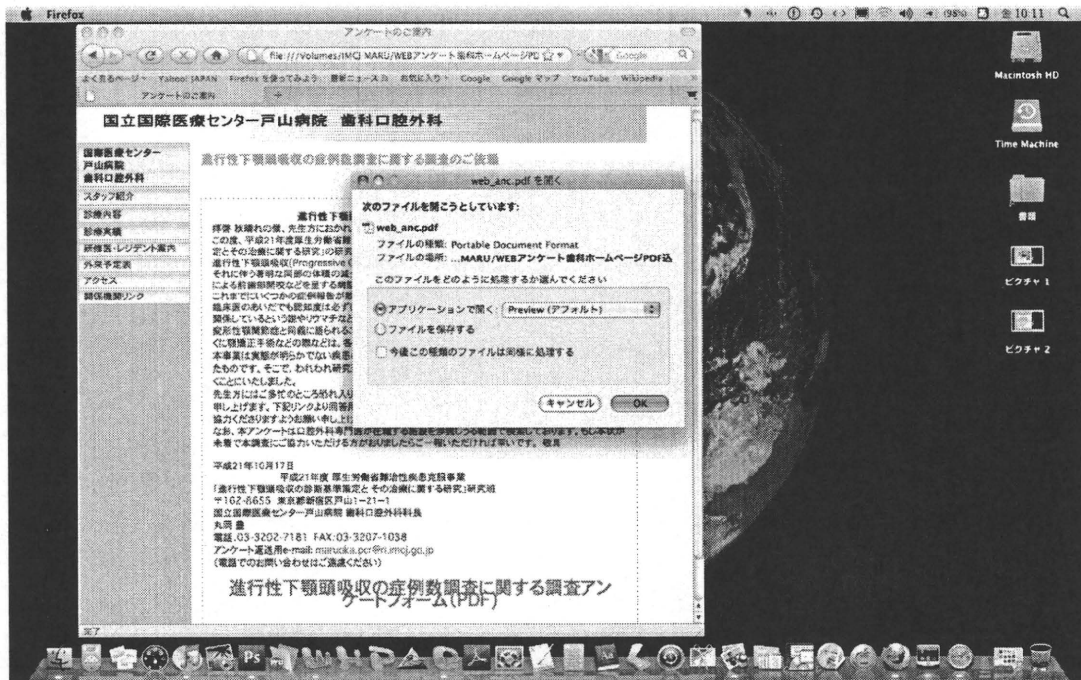


図3

5. ダウンロードされたPDFファイルを開くと図4のような画面が現れます。ほとんどがラジオボタンで済むように簡略化してあります。3例までしか入りませんので、4例以上登録可能な先生は、下記に示すデータ送信用のメールアドレスにご連絡をお願いいたします。

図4

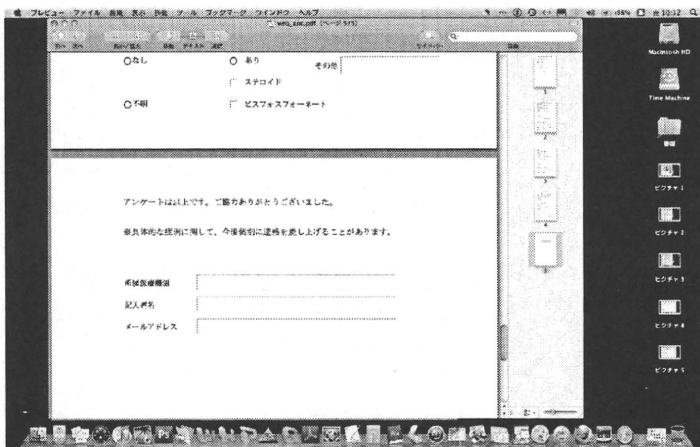
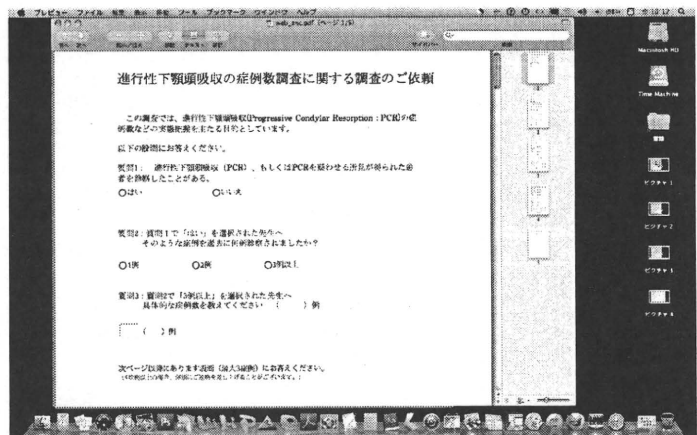


図5

6. これでアンケートは終了です。つぎに「テキストとして保存」してください。

図2にもお示しましたが、その保存したファイルを添付して maruoka.pcr@ri.imci.go.jp にお送りください。3例以上登録して下さる先生は、同じく maruoka.pcr@ri.imci.go.jp にご連絡をお願いいたします。症例数に応じたファイルをご送付致します。

ありがとうございました

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

(H22-難治-一般-157)

ケモカイン受容体異常に起因する骨軟骨代謝異常と進行性下顎頭吸収の発症機序に関する研究

分担研究者：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

研究要旨

進行性下顎頭吸収（Progressive Condylar Resorption: PCR）の発症原因の解明のため、PCRを呈した患者を対象として、血液及び尿検体を用いて骨代謝マーカーとケモカインレセプター CCR1, CCR5 の異常との関連を検討した。

A:研究目的

今回の研究は PCR 患者、または PCR を発症する可能性が高い下顎後退症もしくは上顎前突症の患者において、骨代謝マーカーとケモカインレセプター CCR1, CCR5 の異常との関連について検討することを目的とした。

B:研究方法

年齢、性別、顔貌所見、口腔内所見（残存歯の数、部位、形状、治療状況、咬合状態の評価など）、顎関節の所見（開口閉口時の切歯路、関節雑音の有無、疼痛の有無など）、オルソパントモ X 線写真などを評価した。また現在治療中の病気や使用薬、既往歴などを聴取した。必要に応じて口腔内の印象採得、MRI 撮像、CT 撮影などを行った。

また患者から血液と尿を採取した。採血量、採尿量は、それぞれ 10ml とした。（倫理面への配慮）

研究参加について患者の同意を取り、また、患者は自由意志において研究への協力中止を申し出ることができるようにした。採取した

血液あるいは尿は匿名化し、速やかに廃棄した。レントゲン等の資料もすべて匿名化し口腔外科にて管理した。データは PC にて管理されるが個人が特定される情報は含まれないよう十分に配慮した。

C:研究結果

当科で経験した 2 症例について検討した。

症例 1：患者は 12 歳頃から開口時顎関節のクリックおよび前歯部開咬を自覚し、平成 18 年 10 月当科初診となった。初診時年齢 16 歳の女性、口腔内所見では前歯部の開咬（Overbite:-4mm, Overjet:2mm）と上顎歯列の叢生が認められ、パノラマ X 線写真では両側下顎頭の形態変化が認められた。右側顎関節に関節雑音が消失する顎位を認めない関節雑音を触知した。開口量 48mm で、両側顎関節に疼痛は認められず、関節雑音の消失顎位も認められなかった。PCR を伴う開咬症および右側顎関節症と診断し、顎関節症の治療としては開口練習を指示した。咬合不全の改善に関しては、本学矯正歯科に治療を依頼した。

しかしながら患者の都合により、受診中断となった。平成 19 年 10 月患者は開咬の増悪傾向を自覚したため、再診となった。前歯部開咬の進行 (Overbite:-6mm, Overjet:0mm) を認めた。開口量は 48mm、右側関節雑音は変化なく、疼痛は認められなかったが、患者は右側顎関節部に擦れるような違和感を自覚していた。パノラマ X 線写真では右側下顎頭の形態変化の進行を認めた。MRI では関節円板の復位を伴わない前方転移を認め、顎関節後部軟組織に若干の炎症所見を認めた、骨シンチグラフィでは右側下顎頭への集積の増強を認めた。治療としては開口練習を行いながら、矯正歯科医と相談し、クリプ付きの上顎拡大床を用いて開咬症および叢生の改善を図ることとした。平成 22 年 2 月本研究への同意が得られたため、採血および尿検査を施行した。現在は矯正治療を継続しながら、顎関節症の経過観察を行っている。

症例 2 : 患者は 36 歳頃に右側顎関節部に咬合時痛を自覚し、某歯科にてスプリント療法にて症状改善。しかし、42 歳時に前歯部開咬を自覚し、45 歳頃より開咬の増悪を自覚、某歯科大学病院受診し、精査を薦められ平成 23 年 1 月当科初診となった。初診時年齢 48 歳、女性。口腔内所見では前歯部の開咬 (Overbite:-4mm, Overjet:3mm) を認め、パノラマ X 線写真では両側下顎頭の形態変化が認められた。開口量は 46mm で、両側顎関節に疼痛および雑音は認められなかった。PCR を伴う開咬症と診断した。MRI では顎 MRI では関節円板の復位を伴わない前方転移を認め、顎関節後部軟組織に若干の炎症所見を認めた。骨シンチグラフィでは全身および顎関節部に集積は認められなかった。治療方針としては開口練習を行いながら、矯正歯科医と相談

し、矯正治療による開咬症の改善を検討中である。平成 23 年 2 月本研究への同意が得られたため、採血および尿検査を施行した。

D: 考察

両症例とも検査時には臨床的に PCR の進行は止まっていたと考えられるが、今後、症状が再発する可能性も考えられるため、経過観察を行ってゆくことが重要と考える。

E: 結論

現在のところ PCR の病態解明に繋がる結果は出ていないが、今後も症例を増やして検討を重ねてゆく。

F: 健康危機情報

なし。

G: 研究発表

1. 論文発表

1. Harada H, Omura K: Preoperative concurrent chemotherapy with S-1 and radiotherapy for locally advanced squamous cell carcinoma of the oral cavity: Phase I trial. *J Exp Clin Cancer Res.* 29:33, 2010.
2. Higuchi Y, Kabasawa Y, Sato M, Kikuchi T, Aoki K, Ohya O, Maruoka Y, Omura K: Effect of recombinant human fibroblast growth factor-2 on bone formation in rabbit mandibular distraction models using β -tricalcium phosphate. *Congenit Anom.* 50(2):95-104, 2010.
3. Hirai H, Omura K, Harada H, Tohara H: Sequential evaluation of swallowing function in patients with unilateral neck dissection. *Head Neck.* 32(7):896-904, 2010.
4. Kayamori K, Sakamoto K, Nakashima T,

- Takayanagi H, Morita KI, Omura K, Nguyen ST, Miki Y, Iimura T, Himeno A, Akashi T, Yamada-Okabe H, Ogata E, Yamaguchi A: Roles of interleukin-6 and parathyroid hormone-related peptide in osteoclast formation associated with oral cancers. Significance of interleukin-6 synthesized by stromal cells in response to cancer cells. *Am J Pathol.* 176(2):968-980, 2010.
5. Miyazaki H, Omura K, Kakizaki H: Orbital approach via swinging eyelid procedure. *Asian J Oral Maxillofac Surg.* 22(1):17-19, 2010.
 6. Mochizuki Y, Omura K, Kaneoya A, Kayamori K, Yamaguchi A: Osteonecrosis of the mandible associated with bisphosphonate therapy: report of a case with surgical intervention. *Oral Surgery.* 2:153-157, 2010.
 7. Mochizuki Y, Omura K, Sakamoto K, Nakanishi S, Satoh K, Marukawa E, Yamaguchi A: A case of primary combined neuroendocrine carcinoma with squamous cell carcinoma in the upper gingiva. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 109(4):e34-e39, 2010.
 8. Mochizuki Y, Omura K, Harada H, Kayamori K, Okada N, Yamaguchi A: Malignant fibrous histiocytoma of the jaws: A report of 3 cases. *Asian J Oral Maxillofac Surg.* 22(3):143-147, 2010.
 9. Prapinjumrune C, Morita K, Kuribayashi Y, Hanabata Y, Shi Q, Nakajima Y, Inazawa J, Omura K: DNA amplification and expression of FADD in oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med.* 39(7):525-532, 2010.
 10. Uekusa M, Omura K, Nakajima Y, Hasegawa S, Harada H, Morita KI, Tsuda H: Uptake and kinetics of 5-aminolevulinic acid in oral squamous cell carcinoma. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 39(8):802-805, 2010.
 11. 小村 健、原田浩之、島本裕彰: 遊離血管柄付き骨による下顎再建. *日本口腔腫瘍学会誌* 22(2):61-68, 2010.
 12. 北村良平、川元龍夫、宮本 順、樺沢勇司、小村 健、黒原一夫、天笠光雄、森山啓司: 馬蹄形骨切り併用Le Fort I型骨切り術と下顎枝矢状分割術を施行した骨格性下顎前突症例の術後の形態変化について. *日本顎変形症学会雑誌* 20(3):211-219, 2010.
 13. 栗林悠里、櫻井仁享、伊東大典、小村 健: 口腔粘膜に初発した尋常性天疱瘡10例の臨床的検討. *日本口腔外科学会雑誌* 56(3):189-193, 2010.
 14. 高 楠旻、櫻井仁享、小村 健: 骨破壊を伴った放線菌性下顎骨骨髓炎の1例. *日本口腔外科学会雑誌* 56(2):90-94, 2010.
 15. 島本裕彰、小村 健: 当科における血管柄つき肩甲骨皮弁による下顎再建. *日本口腔腫瘍学会誌* 22(4):122-127, 2010.
 16. 原田浩之、小村 健: 上顎歯肉・硬口蓋扁平上皮癌の治療. *頭頸部癌* 36(4):383-387, 2010.

17. 平井秀明、三澤常美、河西八郎、小山敏雄：下唇に発生した血管平滑筋腫の1例
口腔領域報告例の臨床病理学的検討。
山梨県立中央病院年報 36:67-70,
2010.
18. 本田 綾、馬場祥行、片岡恵一、鈴木聖一、森田圭一、小村 健、森山啓司：Le Fort I型骨切り術により幅の広い顎裂を閉鎖した成人片側性口唇口蓋裂の1症例。日本顎変形症学会雑誌 20(3):258-265, 2010.
19. 丸川恵理子、吉田文彦、宮崎英隆、櫻井仁亨、石井良昌、小村 健：口腔内に初発症状を呈した急性骨髄性白血病の3例。日本口腔外科学会雑誌 56(5):323-327, 2010.
20. 森田圭一、菊池 剛、今泉史子、根岸綾子、辻美千子、小村 健：新規創内固定型上顎骨延長装置を用いて治療した両側唇顎口蓋裂術後上顎後退症の1例。日本口腔外科学会雑誌 56(7):450-454, 2010.

第 55 回日本口腔外科学会総会・学術大会、千葉、2010年10月17日。

3. その他の業績
なし。

H: 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。

総説

1. 丸川恵理子、小村 健：骨再生療法に用いる分化・増殖因子および足場の現状。
クインテッセンス・デンタル・インプラントロジー 4:61-70, 2010.
 2. 根岸綾子、尾野雅哉、増田万里、小村 健、山田哲司：口腔癌のプロテオーム解析。
病理と臨床 28(5):506-511, 2010.
2. 学会発表
- 丸岡 豊、今井英樹、小村 健：ケモカイン受容体異常に起因する骨軟骨代謝異常と進行性下顎頭吸収に関する研究。

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

(H22-難治-一般-157)

下顎頭吸収を伴う不正咬合に対する矯正歯科外来での対応

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

研究協力者：川元龍夫・東京医科歯科大学大学院 顎顔面矯正学分野・講師

研究協力者：茂木和久・東京医科歯科大学大学院 顎顔面矯正学分野・専攻生

研究要旨

下顎頭吸収を伴う不正咬合患者が来院した際の矯正歯科外来での対応について整理するとともに、実際の治療例から矯正歯科学的アプローチにおける問題点を抽出する。

A:研究目的

近年、変形性顎関節症や進行性下顎頭吸収などの顎関節に問題を有する患者が不正咬合を主訴として矯正歯科を受診する機会も少なくない。しかし、進行性下顎頭吸収の病因論については正確に解明されておらず、さらに病名の定義や治療法に関する具体的なコンセンサスについても確立されていないのが現状である。今回我々は、顎関節に問題を有する患者に対する当分野での対応を整理するとともに実際の治療例を検討することで、矯正歯科学的アプローチにおける問題点を抽出することを目的とした。

B 矯正歯科外来での対応

矯正歯科初診時の基本検査(X線診査、模型診査、アンケート等)から、下顎頭に問題を認めた患者に対してCT、MRI、顎機能検査などの顎関節の精査を行う。顎関節痛、開口障害等の臨床症状を認め

た場合は、口腔外科外来や顎関節治療部と連携して臨床症状の軽減を優先する。また、リウマチなどの全身疾患が疑われる場合は、医学部への対診を行っている。下顎頭吸収が進行性であると疑われる場合は、その進行状態の確認のために経過観察を行う。下顎頭吸収が進行性でないと判断した場合は、矯正治療計画を立案していくことになる。

C 症例

東京医科歯科大学歯学部附属病院矯正歯科外来を受診し、初診時に下顎頭の変形を認めた7症例のうち、下顎頭吸収の進行が疑われた4症例(経過観察した3症例、5年の経過観察後に外科的矯正治療を行った1症例)と下顎頭吸収の進行はないと判断した3症例(外科的矯正治療を行った2症例、歯科矯正治療を行った1症例)を検討する。

症例 1

初診時年齢 18 歳 2 か月、Overjet +3.5mm、Overbite -3.0mm、Angle Class II の女性症例。正貌は左右対称、側貌は Convex type。CT により下顎頭形態を確認したところ、皮質骨の断裂は認められなかったが両側下顎頭の軽度の変形が認められた。また中学生頃から前歯が開いてきたとのことで、下顎頭の進行性吸収が疑われたため、経過観察を行った。

症例 2

初診時年齢 25 歳 3 か月、Overjet +5.0mm、Overbite +1.0mm、Angle Class II の女性症例。正貌は左右対称、側貌は Convex type。CT により下顎頭形態を確認したところ、両側下顎頭上方に皮質骨の断裂、著しい吸収像が認められたため、経過観察を行った。

症例 3

初診時年齢 26 歳 8 か月、Overjet +12.0mm、Overbite +3.5mm、Angle Class II の女性症例。正貌よりオトガイ部の左方偏位を認め、側貌は Convex type。CT により下顎頭形態を確認したところ、皮質骨の断裂、粗造な皮質骨表面像が認められ、また顎位が不安定であるため Splint を併用し経過観察を行った。1 年後、左側下顎頭に進行性の吸収とともに、わずかな下顎の後方移動を認めた。

症例 4

初診時年齢 15 歳 6 か月、Overjet +15.0mm、Overbite -2.5mm、Angle Class II の男性症例。正貌でオトガイ筋

の緊張を認め、側貌は Convex type。CT により両側下顎頭の著明な短小化と表面性状の問題を認めた。進行性の下顎頭吸収と判断し経過観察を行った。観察 4 年目から 5 年目にかけて、下顎頭吸収の進行が止まったと判断し、外科的矯正治療を前提とした術前矯正治療を開始した。なお、観察 5 年経過時の CT より下顎頭の構造物はほぼ失われていた。下顎には下顎歯槽部骨切り術と骨延長法を併用し、上顎は小白歯の抜歯を併用した外科的矯正治療により、咬合状態は改善した。現在保定観察中である。

症例 5

初診時年齢 17 歳 11 か月、Overjet +10.5mm、Overbite -3.0mm、Angle Class II の女性症例。正貌は左右対称、側貌は Convex type。X 線写真より両側下顎頭変形が疑われたが進行性の吸収はないと判断し、術前矯正治療後に下顎枝矢状分割術による下顎の前方移動を施行し、下顎の後退感の解消、咬合状態の改善が認められた。しかし保定開始後 3 年経過時に咬合状態の悪化を認め、X 線写真から、術後の下顎頭吸収の関与が推測された。

症例 6

初診時年齢 52 歳 9 か月、Overjet +11.0mm、Overbite +5.5mm、Angle Class II の女性症例。正貌で閉口時にオトガイ筋の緊張を認め、側貌は Convex type。X 線写真にて左側下顎頭の平坦化を認めたが、進行性ではないと判断し、外科的矯正治療による術前矯正治療を開

始した。下顎頭への負担軽減のために、上顎前歯部歯槽骨切り術とオトガイ形成術を選択し良好な咬合状態を獲得した。保定開始後 2 年経過時においても顎関節に変化を認めず安定した咬合を保持していた。

症例 7

初診時年齢 23 歳 2 か月、Overjet +11.0mm、Overbite 0mm、Angle Class II の女性症例。正貌でオトガイ筋の緊張を認め、側貌は Convex type。CT より両側下顎頭の著しい吸収像を認めたが、皮質骨の連続性を認めたため、積極的に矯正用インプラントを用いた上顎大白歯の圧下を用い、下顎の反時計方向への回転を図る治療を行った。保定開始時に下顎頭の吸収による若干の下顎の後退を認めたものの、良好な咬合が確立された。

D:研究結果および考察

過去の報告と同様、当分野でも下顎頭の吸収、変形を認める症例では、開咬を伴う下顎後退症が多かった。これらの顎態に対する矯正治療では、骨格的な不調和を改善するために外科的矯正治療を用いることも多いが、術後の安定性を図ることが難しい症例もみられる。治療計画の立案には、下顎頭の再吸収のリスクも考慮し、顎関節に対して負担の少ない術式を選択する必要がある。

一方、近年では矯正用インプラントアンカーを用いることで、積極的に臼歯部を圧下し、下顎の反時計方向の回転による下顎の後退感、開咬の改善を図る治療も行われ、良好な結果を得ている。長期

的な予後をみる必要があるが、現時点では有効なオプションの一つと思われる。

E:結論

進行性の下顎頭吸収が疑われる場合には、その進行が止まるまで経過観察を余儀なくされることが多く、歯科矯正治療の開始時期の遅延により治療が長期化する。また、外科的矯正治療を行う際には、外科処置や後戻りのリスクに関して患者の同意が必要となるとともに、慎重な術式の選択が求められる。

今後、長期的な安定性を考慮した、下顎頭に対して負担の少ない治療方法の確立を行っていきたい。

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

(H22-難治-一般-157)

基礎班：骨組織におけるケモカイン受容体 CCR1 機能の解析

分担研究者：星野昭芳 （独）国立国際医療研究センター 研究所・協力研究員

分担研究者：飯村忠浩 東京医科歯科大学・歯学部・口腔病理学 准教授

分担研究者：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

分担研究者：上羽悟史 東京大学大学院医学系研究科・分子予防医学 助教

分担研究者：山本健二 （独）国立国際医療研究センター 研究所・副所長

研究要旨

進行性下顎頭吸収 (Progressive Condylar Resorption: PCR) の発症と病態の進行には、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。我々は前年度までに、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 受容体欠損マウスが、骨密度が野生型マウスより低密度であることを見出しており、この原因が破骨細胞の成熟不全に拠ることを見出していた。本年我々は引き続き、ケモカイン受容体欠損が骨芽細胞の分化・成熟に対しても機能しているかどうかについて検討した。その結果、骨芽細胞上に発現する CCR1 が骨芽細胞の分化成熟にも機能していること、またケモカインが RANK-RANKL 系を介して破骨細胞先駆細胞の分化スイッチとして機能していることを発見した。これにより、ケモカインならびにケモカイン受容体系が破骨細胞のみならず骨芽細胞の機能調整にも機能し、骨・軟骨代謝に積極的に関与することが明らかとなった。結論として、ケモカインが骨代謝など生理的代謝活動においても機能を有することが示され、非炎症性の関節疾患と考えられる PCR 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。

A:研究目的

進行性下顎頭吸収 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。しかしながら、本疾患の発症原因

が不明であり、また診断基準についてもいまだ不明瞭である。現在は下顎の退行による咬合不全を訴える患者には明確な治療方針がないため、主たる目的として咬合の安定を目指しての外科手術を実施している例

や、逆に外科手術を契機として発生する可能性がある「医原性 PCR」の誘発を恐れるあまり本来必要な手術・処置が行われないという事態がある。本疾患は、なんらかの要因で下顎頭が進行性に急速に吸収され最終的には開咬に到ることから、その背景に骨ならびに軟骨の異常が想定されている。実際に臨床歯科領域では、歯列矯正や口腔外科的な治療で「ある程度」の対処が可能であること、また病変部位からの検体採取が極めて困難であることなどから、その生化学的な病態に関しては不明点が多い。実際のところ、本疾患が他の関節疾患と同様に炎症随伴性であるかどうか不明瞭である。しかし当該疾患を診察した口腔外科医ならびに矯正歯科医の中には、この顎関節疾患は炎症を伴わないのではないかとのも見も寄せられつつある。一方で、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いため、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。

我々は昨年度の本研究班の基礎研究により、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ひとつである CCR1 が、マクロファージのみならず同じミエロイド系に起源を持つ破骨細胞の機能にも関与していることを見出し、CCR1 遺伝子を欠損した CCR1KO マウスの解析により、当該マウスが野生型マウスより低い骨密度を呈すること、および開口傾向をもつことを明らかにした。しかしながらこのマウスの表現系は、ここで観察された破骨細胞の機能抑制だけでは説明できない。そこで本年度、我々は

CCR1KO マウスが骨芽細胞の分化成熟にも関与している可能性を検討し、ケモカイン受容体の骨芽細胞における機能を解析した。

B:研究方法

(1). 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。また、カルセイン投与によりマウス骨組織の成長割合を定量的に算出した。マウス血清においてコラーゲンテロペプチド NTx などの骨粗鬆症マーカーを測定し、マウス個体における骨代謝回転について比較検討した。同時に、骨組織から直接 RNA 抽出を行い、リアルタイム PCR 法にて骨気質タンパク質の骨組織における発現量を定量的に解析した。

(2). 培養骨芽細胞解析:CCR1KO マウスならびに対照群となる野生型マウスより骨髄由来 mesenchymal stromal 細胞を採取、骨芽細胞分化因子の添加条件で培養し、骨芽細胞へ分化させた。骨芽細胞分化に応じて賛成される骨特異的アルカリフォスファターゼ産生を指標に分化度を判定し、分化過程における骨芽細胞特異的マーカーならびに転写因子群の発現の時間的変化をリアルタイム PCR 法にて定量解析した。また骨ミネラル沈着を Von Kossa アッセイにて測定した。破骨細胞機能におけるケモカインの機能について、CCR1KO 骨芽細胞と野生型破骨細胞先駆細胞との混合培養実験により解析した。

(3). 破骨細胞分化解析: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ミエロイド系細胞を分離回収し、破骨細胞分化に必要な増殖因子 M-CSF ならびに RANKL 存在下で破骨細胞先駆細胞を誘導した。フローサイトメトリーにより CD11b, CD115, および RANK など細胞表面マーカーを指標にミエロイド細胞から破骨先駆細胞の分化について定量的・定性的に検討した。また分化成熟過程における破骨細胞関連分子の発現変化をリアルタイム PCR 法にて定量解析した。

(倫理面への配慮)

当該実験は、(独) 国立国際医療研究センター病院の倫理委員会・患者検体利用委員会ならびに遺伝子倫理委員会の各委員会にて承認済みである。また、動物実験に関しては、当該施設にてバイオセーフティ・遺伝子組換え動物委員会の承認を受けている。

C: 研究結果

(1). 骨形態解析: CCR1 欠損マウスでは対照群となる野生型マウスに比して頭蓋骨など骨格形状がやや変化しており、CCR1 欠損マウスでは対照群となる野生型マウスに比して、海綿骨領域における骨密度が低く、骨梁構造が未発達であった。また骨組織の成長速度が極めて遅いことから、CCR1KO マウスが典型的な骨組織の低形成であることが判明した。この骨密度低下は、野生型マウスにケモカインリガンドの中和抗体を投与した実験系でも確認された (図 1)。このことから、ケモカインの欠損は海綿骨密度を低下させることが明らかとなった。

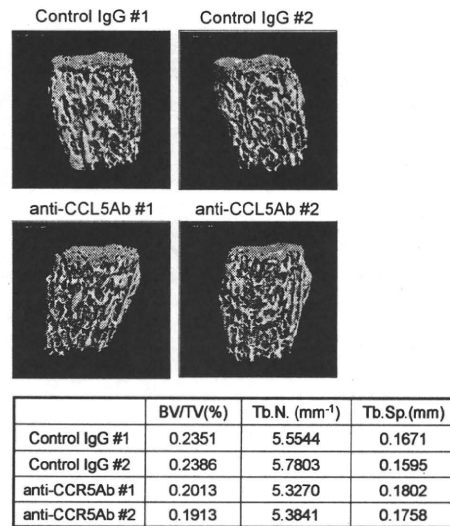


図 1 ケモカイン中和抗体投与マウスにおける骨密度の変化 C57BL/6 マウスにケモカイン CCL5 の中和抗体を 500 μ g/mouse 濃度で投与し、2 週間後の海綿骨密度を micro CT にて解析した。

(2). 培養骨芽細胞解析: 培養骨芽細胞においては、CCR1KO マウス由来骨芽細胞では、骨分化に必要な転写因子の発現レベルが極めて低く、細胞の成熟末期に産生されるオステオカルシンが産生されない状態であった。このことより CCR1 が骨芽細胞の成熟段階の調整に関与している可能性が示唆された。また、CCR1KO マウス由来骨芽細胞と正常破骨先駆細胞とを混合培養しても、正常破骨先駆細胞の多核融合化を誘導できないことが判明した。この破骨細胞の成熟不全の主因は、破骨細胞への最終分化を制御することで知られる RANK-RANKL 系のうち、骨芽細胞におけるリガンド RANKL の発現レベルがきわめて低くなっているためであることが判明した。

(3). 破骨細胞分化解析: 培養破骨細胞においても、CCR1KO マウス由来細胞では RANK-RANKL 系のうち受容体 RANKL の

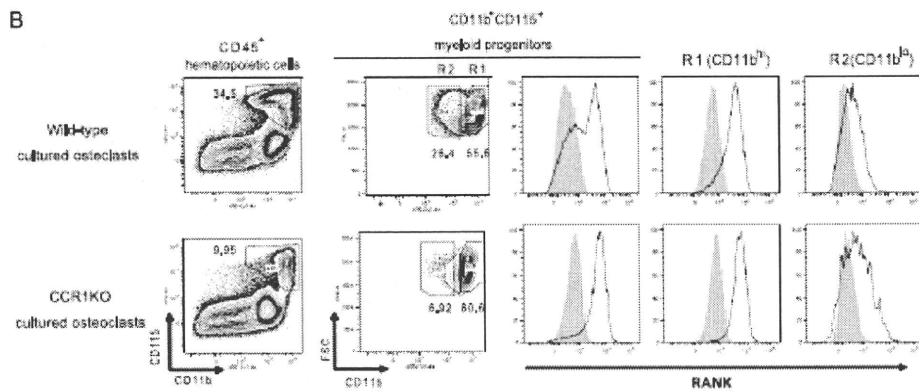


図2 CCR1KOマウス破骨先駆細胞の表面マーカー解析 CCR1KOならびに野生型マウス骨髄よりミエロイド系先駆細胞を回収し、増殖因子 M-CSF ならびに破骨細胞分化誘導因子 RANKL 添加条件下で培養した。培養 4 日後に $CD45^+$, $CD115^+$, $CD11b^+$ ミエロイド先駆細胞における発現をフローサイトメトリーにて検討した。CCR1KO 細胞では、 $CD115^+$, $CD11b^{dull}$, $CD265^{lo}$ の表現形をもつ単核破骨先駆細胞が減少している。

発現が低下しており、ミエロイド先駆細胞から、 $CD115^+$, $CD11b^{dull}$, $CD265^{lo}$ の表現形をもつ単核破骨先駆細胞への分化が抑制されていることが判明した(図2)。したがって CCR1KO マウスでは、必須の骨形成因子である 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。

D:考察

(1) 達成度について

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、破骨細胞機能の調整のみならず骨芽細胞の分化成熟に対し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。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」のひとつ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重要な発見である。

(2) 成果の学術的・国際的・社会的意義について

前述の通り、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、これらマウスを上述の疾患のモデル動物として提唱することが可能

であるという学術的意義は非常に大きい。

CCR1KO マウスの解析によって得られた生化学的な情報は、今後 PCR 患者の疾患発症要因を検討しその原因を追求する上で、また今後新たな治療方針を決定する上でも非常に有力な情報を提供することになり、極めて意義が大きい。もし PCR 病態をあらかじめこれら生化学的指標にて事前に解析することが可能となれば、不要な外科手術を避けることができ、患者負担の軽減のみならず、ひいては医療経済の負担を減じるという社会的な意義ももたらすことが可能となる。

(3) 今後の展望について

本研究により、少なくともマウスにおいては。上記に示すように CCR1 などケモカインが生理的骨代謝に機能を有することが判明した。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、マウス病態と本疾患病態とは、形態学的な類似性こそ確認されているものの、生化学的・分子生物学的な関連性については検討途上である。マウスモデルによる解析とヒト疾患との比較検討により、今後これら関係を明らかにすることは非常に重要である。

E:結論

生理的骨代謝におけるケモカイン CCR1

の機能をすくなくともマウスレベルにおいて解明することができた。

F:健康危機情報

なし

G:研究発表

1. 論文発表

1. Hoshino A, Iimura T, Ueha S, Hanada S, Maruoka Y, Mayahara M, Suzuki K, Imai T, Ito M, Manome Y, Kirino T, Yamaguchi A, Matsushima K, Yamamoto K. "Deficiency of chemokine receptor CCR1 causes osteopenia due to impaired functions of osteoclasts and osteoblasts." *J. Biol. Chem.* 2010 Sep 10; 285(37):28826-28837

2. 学会発表

1. 星野昭芳、飯村忠浩、山本健二、山口朗 「骨代謝におけるケモカイン受容体 CCR1 の機能解析」 *日本骨代謝学会学術集会* 2010 年 7 月, 東京
2. Hoshino A, Iimura T, Yamamoto K, Yamaguchi A. "Deficiency of Chemokine Receptor CCR1 Causes Osteopenia Due to Impaired Functions of Osteoclasts and Osteoblasts." *American Society for Bone and Mineral Research Annual Meeting*. Oct 15-19, 2010. Toronto, Canada.
3. 星野昭芳、飯村忠浩、上羽悟史、松島綱治、山本健二、山口朗 「骨代謝におけるケモカイン受容体群の機能解析」*骨発生・再生研究会* 2010

年 11 月, 東京.

3. その他の業績
書籍等
なし

H: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
特記事項なし

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

(H22-難治-一般-157)

基礎班：炎症性骨代謝異常の機序解明

分担研究者: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

分担研究者:上羽悟史 東京大学大学院医学系研究科・分子予防医学 助教

研究要旨

進行性下顎頭吸収(Progressive Condylar Resorption: PCR)の病態形成には、物理的な要因に加え、骨および軟骨の代謝異常の関与も示唆されているが、その発症機序ならびに診断マーカーは確立していない。近年、炎症性の骨代謝異常が原因で関節破壊が生じる関節リウマチでは、炎症性サイトカインや、骨吸収を司る破骨細胞の分化を標的とした分子標的薬が臨床応用された。また、我々は最近、臨床的に骨粗鬆症と相関が報告されている移植片対宿主病(GVHD)のマウスモデルでは、CD4 T細胞依存的に骨形成を司る骨芽細胞が重度に障害されることを見出した。CD4 T細胞依存的な骨芽細胞障害の発症機序が明らかになれば、炎症性の骨形成不全の診断マーカーならびに治療法の確立につながる可能性がある。本研究では、X線照射による骨芽細胞障害の影響を排除する目的でX線非照射GVHDモデルを作成し、CD4 T細胞依存的な骨芽細胞障害の発症過程を詳細に解析した。X線照射モデルと同様に、GVHD誘導群ではCD4 T細胞が骨髄に浸潤する移植後10日目に骨芽細胞マーカーであるALP活性の低下を認めた。またRT-PCR解析により、骨芽細胞分化の中期以降に発現する*Osterix*, *Osteocalcin*の発現低下を認めたが、骨芽細胞分化の初期から発現する*Runx2*の発現は亢進していた。これらの結果は、CD4 T細胞が骨系前駆細胞から未成熟骨芽細胞への分化を阻害することで、骨芽細胞障害を誘導することを示唆している。また、骨髄キメラマウスを用いた実験により、TCR・MHC IIを介したCD4 T細胞による骨芽細胞の認識は、骨芽細胞障害に関与しないことも明らかになった。今後、活性化CD4 T細胞が産生する骨芽細胞分化抑制因子を同定することで、炎症性骨形成不全の新規診断マーカーおよび治療標的の確立と、PCRの機序解明に貢献できるものと期待している。

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。その病態形成には物理的な要因に加え、骨および軟骨の代謝異常の関与も示唆されている。近年、炎症に伴う骨代謝異常、特に骨吸収を司る破骨細胞の増加、活性化による骨病変の分子機序が明らかにされ、これを標的とした分子標的薬が臨床応用されつつある。

一方、我々はこれまでに同種造血幹細胞移植(allogenic hematopoietic stem cell transplantation: allo-HSCT)の合併症である移植片対宿主病(Graft-versus-Host disease: GVHD)を発症した患者で問題となる骨粗鬆症の発症機序について、マウスGVHDモデルを用いた解析を行い、活性化ドナーCD4 T細胞による骨芽細胞障害を見出した。

本研究では、CD4 T細胞依存的な骨形成不全の発症機序解明の基礎を築くことを目的として、X線非照射GVHDモデルにおける骨芽細胞障害の発症過程を詳細に解析した。

B:研究方法

(1). X線非照射GVHDモデル: (C57BL/6 x DBA2)F1マウス(BDF1:CD45.2, H2^{b x d})にC57BL/6マウス(B6: CD45.1, H2^b)の全脾臓

細胞を移入し(5x10⁷個/マウス)、MHC完全不適合X線非照射GVHDモデルを作成した。

(2). 骨髄キメラマウス: 致死量X線照射を施したB6またはbm12にB6由来T細胞除去骨髄細胞(TCD BM)を5x10⁶個/マウス移植した。移植2ヶ月後、同骨髄キメラマウスに再度X線照射を施した後、bm12マウス由来TCD BMのみ、またはTCD BM + T細胞を移植し、GVHDを誘導した(bm12→[B6→bm12]モデル)。

(3). フローサイトメトリー: レンピエントのリンパ節、末梢血、骨髄より細胞懸濁液を調整し、蛍光標識した抗マウスCD4, CD8, CD44, CD62L, CD45.1, CD45.2抗体で染色した後、ドナーT細胞の増殖および骨髄浸潤をLSR II フローサイトメーターを用いて解析した。

(4). 病理学的解析: allo-HSCT後経時的にGVHDマウスまたはコントロールマウスの骨サンプルを採取し、HE染色および酵素発色法によるalkaline phosphatase (ALP)陽性骨芽細胞の検出を行った。

(5). RT-PCR: 凍結破砕した骨サンプルよりRNAを抽出し、cDNAへ逆転写後、骨芽細胞の分化に関わる遺伝子(*Runx2*, *Osterix*, *Osteocalcin*)発現をRT-PCRにより解析した。

本研究で行った全ての動物実験は、各種法令および指針を遵守し、動物愛護を十分に配慮した上で遂行した。

C:研究結果

X線非照射 GVHD モデルにおいて、ドナー T 細胞の骨髄浸潤と骨芽細胞障害を経時的に解析した。フローサイトメトリーにより、リンパ節では移植後 2 日目から CD45.1⁺ ドナー CD4 および CD8 T 細胞の増加を認め、10 日目をピークとして減少した。骨髄では 7 日目から 10 日目にかけてドナー T 細胞が増加し、14 日目をピークとして減少した(図 1)。骨髄の組織学的解析により、移植後 10 日目に ALP 陽性骨芽細胞の減少を認めしたが、14 日目以降では回復していた(図 2)。

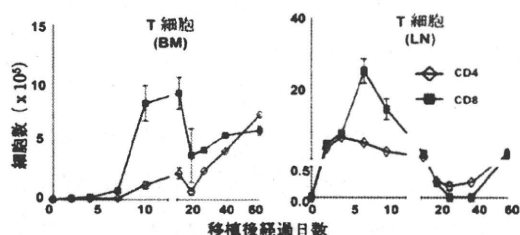


図 1. ドナー T 細胞の動態

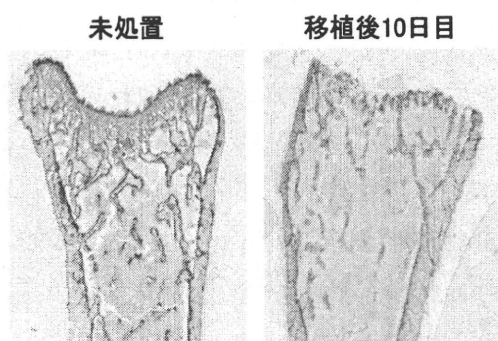


図 2. 移植に伴う骨芽細胞障害

Real-time RT-PCR により骨芽細胞マーカーを解析したところ、骨芽細胞の分化過程(前駆細胞 → 未成熟 → 成熟)において、未成熟以降に発現する *Osterix*, 成熟骨芽細胞に

発現する *Osteocalcin* の発現は減少していたが、前駆細胞以降に発現する *Runx2* の発現は亢進していた(図 3)。これらの結果から、T 細胞依存的な骨芽細胞障害は、骨芽細胞前駆細胞から未成熟骨芽細胞への分化を抑制することが示唆された。

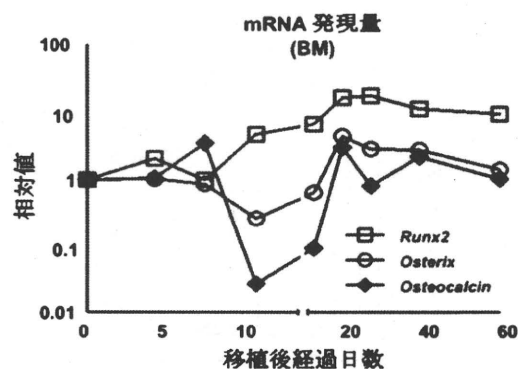


図 3. 骨芽細胞マーカーの動態

bm12→[B6→bm12]モデルを作成し、ドナー T 細胞にとって骨芽細胞などの組織細胞が syngenic になる移植条件下で骨芽細胞障害が発症するかを検討した。本モデルでは、ドナー T 細胞はレシピエントの BDF1 由来血球系細胞を認識し、エフェクター T 細胞へと増殖、分化する。フローサイトメトリーにより脾臓および骨髄における細胞数を解析したところ、X線照射 B6→BDF1 モデルと同様に GVHD 誘導群において脾臓、骨髄におけるドナー T 細胞の増加を認めた。また、同時に骨髄 GVHD の指標となる B 細胞の回復を解析したところ、GVHD 誘導群では B 細胞の回復が完全に抑制されていた(図 4)。