

II. 総合分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）総合分担研究報告書

平成22・23年度 総合研究報告書

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)

全国の医療機関に対する疾患の実態把握調査

血液、および尿検体からのマーカー検索

PCR患者の治療過程

CCR1、およびCCR5ノックアウトマウスの解析

データベースに基づく関節リウマチ適正治療の調査

臨床研究班：

- 研究代表者：丸岡 豊 国立国際医療研究センター病院・歯科口腔外科・科長
分担研究者：三森 明夫 国立国際医療研究センター病院・膠原病科・科長、副病院長
分担研究者：桂川 陽三 国立国際医療研究センター病院・整形外科・第二整形外科医長
分担研究者：今井 英樹 ひたちなか総合病院・歯科口腔外科・部長
(国立国際医療研究センター・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
(国立国際医療研究センター・研究所・研究補助員)

基礎研究班：

- 分担研究者：山本 健二 国立国際医療研究センター・研究所・副所長
分担研究者：星野 昭芳 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 国立国際医療研究センター・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: 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、結果として咬合異常を呈する病態である。その発症原因は全く不明であるため臨床的に様々な問題を抱えつつ、長く「忘れ去られてきた概念」であった。

本研究班が歯科口腔外科診療機関に行った我が国初の実態アンケート調査において、意外にもPCRという用語そのものの認知度が低く、さらにその診断基準さえ統一されていないという現状が明らかになった。

一方、本研究の契機となったケモカイン受容体CCR5遺伝子欠損(KO)マウス、ならびにCCR5とケモカインリガンドを共有するCCR1のKOマウスの骨軟骨代謝における影響をヒトにおいて再検討することも重要な課題であった。

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我々は見出しており、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。またCCR5欠損マウスには、そのデータの解釈が非常に複雑ではあるが、骨組織の成長速度にはあまり差がないものの、骨端軟骨の成熟の過程に異常がみられ、CCR5が骨組織異常に関連する可能性が判明した。さらに我々は引き続き、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。一方、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。

CCR1とケモカインリガンドを共有するCCR5はHIVの共受容体として機能しているが、すでに本邦でもHIVの治療に実用化されたCCR5拮抗薬がその長期投与によりAIDS患者の骨折リスク増大などQOLに影響を与える可能性がある。我々はPCR発症患者からの尿中・血中における骨代謝関連項目、並びにケモカインを測定し比較検討しているが、同患者においては血中RANTES濃度の上昇が病態を認識するバイオマーカーとして有力であるとの知見を得た。これはマウスのin vivoの結果と一致することから、この知見をベースに今後さらなる検体数の増加と診断基準の策定に努めた。さらに受容体・リガンドも含めた遺伝子レベルでの検索を行う予定を立てた。

我が国にも相応の患者が存在すると思われるが、医療機関を受診する例は非常に少ない。その理由としては、患者が不便を感じながらも病気として捉えていないケース、あるいは医療者側も「治療」に躊躇する例も少なくないと思われる。本研究の目標は、さらに国内外の症例を集め一元的に解析する研究を進め、PCRという用語の改称も含めて、その発症のメカニズムの解明と合理的な診断分類を提唱し、またそれぞれに対する治療法を提案し、かつ予見性を含めてひろく議論を求めることにある。

本研究にて示されたケモカインリガンドであるRANTESは非常に有力なマーカーではあるが、本症発症のメカニズムの中のある過程を反映していると考えるのが適切であると思われた。

すなわち、現状では複合概念であるPCRを臨床所見と検査所見とを併せると

1. 低形成であるもの
2. 自己免疫疾患やそれによる薬剤投与等による二次的な吸収変化
3. その他（関節円盤等の障害等に起因するもの）

と分類するのが適切と考えられた。

加えて、「進行性」かどうか疑わしい症例もあるため、特発性下顎頭吸収(Idiopathic Condylar Resorption: ICR)の名称を提案しており、今後さらにその検証を行う必要があると考える。

本研究は、疾患概念の再認識を図り、適切な医療を遂行する上で大変意義深い研究であった。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、動物実験等の実施に関する基本指針等の趣旨を尊重し遵守した。

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、結果として咬合異常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ため臨床的に様々な問題を抱えている。

我々がわが国で初めて歯科口腔外科診療機関に行ったPCRの実態把握アンケート調査においても、重要な疾患であるにもかかわらず、PCRそのものの認知度が低く、さらにその診断基準が明確に規定されていないという現状が浮き彫りとなった。

一方、本研究の契機となったケモカイン受容体 CCR5 遺伝子欠損(KO)マウス、ならびに CCR5 とケモカインリガンドを共有する CCR1 の KO マウスにおける骨代謝異常とそれに付随する PCR に酷似した下顎頭変形病変の再検討も重要な課題である。我々はケモカインが骨・軟骨代謝において重要な機能を果たすことを初めて明らかにした。我々は、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、および開咬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。そこで我々は CCR1KO マウス、および CCR5KO 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。

HIVの共受容体として機能している CCR5がすでにHIV治療の標的とした実用

化され、長期使用が予想される現状では、AIDS患者に骨軟骨代謝異常やそれに伴う骨折リスクなどのQOLに深刻な影響を与える可能性がある。

我々は本研究にて、PCR発症患者において発現上昇するRANTES等のケモカインが、PCR病態を判定する有力なバイオマーカーとなり得るとの知見を得た。これはマウスの *in vivo*の結果を初めてヒトPCRの病態に関連づけた新知見であった。

また欧米に多く見られるPCR様疾患の本邦との病態比較を目的として、国外の複数機関と国際的共同研究組織を立ち上げ、実務協議に入っている。すでにCCR5については、CCR5-Δ32という遺伝子多型が知られており、その調査には我々がこのネットワークの中心となり、外国の複数の研究機関が研究協力する体制をより強固に進展させ、本研究によって示されたデータを基にPCRに関する情報を交換する必要がある。

本研究の目標は、さらに国内外の症例を集め、解析する研究を進め、PCRという用語の改称も含めて合理的な再定義を提唱し、また発症のメカニズムを解明する端緒を作り、それぞれに対する治療法を提案し、かつ予見性を含めて広く議論を求めることである。

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、国立国際医療研究センター病院のサイトからアクセスし、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。

アンケートの内容や記入方法などは別紙に示す。

2. 血液、および尿検体からのマーカー検索：

国立国際医療研究センター病院において、歯科口腔外科に来院し 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ー分子と、血中 TRACP、NTX、CTX、骨型アルカリフォスファターゼ(BAP)、オステオカルシンなど典型的骨代謝マーカーを測定する。骨代謝マーカーについては、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 α 、および RANTES の濃度についても測定した。こち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、健常人ボランティアを募り、その血清を採取し、この平均値と比較した。

また諸文献を参考にして、TNF- α や β 2 エストラジオール (β 2-Est) も調査の対象に加えた。

また他協力施設からも少数例のサンプルの提供を受けた。

3. 血液からの DNA 採取：

しかし上述 KO マウスの形態変化と患者の血中ケモカイン変動とを結びつける直接的な証拠はなく、患者で確認されたケモカイン変動は、疾患の原因かあるいは病態進行の結果に付随するものなのかの判別はできていない。

この問題点を解決するため本研究では、PCR・骨軟骨代謝異常患者のケモカイン変動を根拠に、ケモカイン分子群と当該疾患との関連性を、血中タンパクレベルに加え遺伝子レベルでも詳細に検討することを試みた。

4. PCR 患者の詳細な治療経過分析：

当センターを受診し、サンプル回収が可能であった 12 例の患者の症例登録、およびそのうち症状が顕著な 1 名の治療経過について詳細な記載を行った。

5. CCR1 ノックアウト(KO)マウスの解析：

(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 法にて骨基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。

6. CCR5KO マウスの解析：

本疾患のモデル動物として期待される CCR5KO マウスに対して PCR とは炎症性疾患なのか、非炎症性疾患なのかに焦点を合わせた研究を行った。また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も前項と同様に検討した。

7. 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、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。

8. チェコ・カレル大学所蔵近世チェコ人の頭蓋骨分析：

頭蓋骨の頭長幅指数において、白人は長頭型が多く、上顎前突の形態を取りやすいと言われている。かつ PCR の報告はほとんどが欧米からなされている。

今回、チェコ共和国プラハ市のカレル大学医学部には 16 世紀以降の頭蓋骨標本が多数所蔵されていることがわかった。チェコ共和国は人種・民族の交雑が極めて少なく、中世以降におけるペストの大流行を生き延びた、前述の CCR5-Δ32 という遺伝子多型をもつ人々が人口の一定数含まれているという。そこで同大学に所蔵されている 16 世紀以降の頭蓋骨の形態学的分析を行い、その特徴の有無を検索した。なおスペースと時間の関係で、その場では写真を撮影し、後日その画像を分析するという方法で行った。

分析項目は頭長幅指数、下顎角の角度 (Gonial angle)、condylar inclination (関節突起の傾斜角)、FMA(下顎下縁平面とフラン克福ルト平面のなす角度)である。

頭長幅指数は、脳頭骨の最大幅、最大長を測定し、最大幅を最大長で割った数字に 100 を掛け、頭長幅指数を求めた。

下顎角の角度 Gonial angle は PCR などを起こす患者は基準値よりも大きいといわれており、歯牙の有無を問わず測定可能である。また前顔面高と後顔面高の差が大きいことも知られているが、歯牙の喪失がみられる検体もあるため、臼歯部の歯牙が残り、咬合

関係が保たれていると見なされた検体に関しては、下顎下縁平面とフランクフルト平面のなす角度、すなわち FMA の角度を測定した。

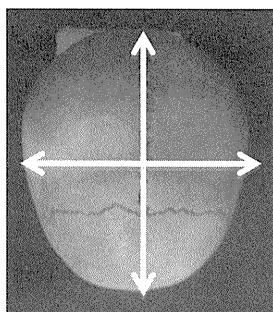


図 1：頭長幅指数の算出。

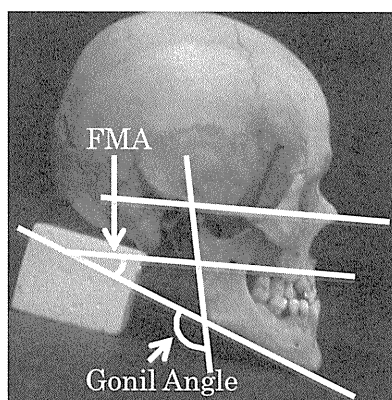


図 2：分析項目

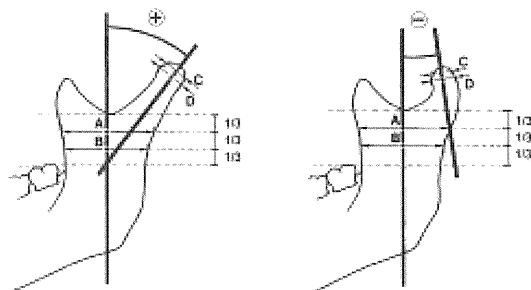


図 3：condylar inclination の説明
(Hwang et al, Journal of Cranio-
Maxillofacial Surgery 32, 103-111, 2004.)

より引用) Condylar inclination (関節突起の傾斜角：図 1 参照) より引用し、関節突起の「後方への傾斜度」を測定した。

9. データベースに基づく関節リウマチ適正治療の調査：

本症を発症する患者には関節リウマチ (RA) の治療歴を有する者がおり、RA との関連を調査する目的で、RA の治療内容の変遷と合併症の発症をモニターすることを目的とした。

国立国際医療研究センター病院膠原病科の、RA 診療データベースを用いた。2006 年から作成を開始し、通院者全員の病歴情報 (発症日・DMARDs 投与開始日・合併症発症) の入力システムを確立した。2011 年末までの登録は 694 人であった。

(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、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研究センター倫理委員会において承認済みである。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. 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、現在までに 93 施設から回答を得、回収率は 17%であった。

各項目において未記入のものがそれぞれ若干数あるため、各調査項目の合計は必ずしも同数にならない。

男性 9 例、女性 98 例、そして資料が古く詳細が確認できない症例、担当医の転出等の理由で詳細が不明な症例、記録照合中の症例なども含め、性別不明の 65 例を加え、合計 172 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（図 4）。

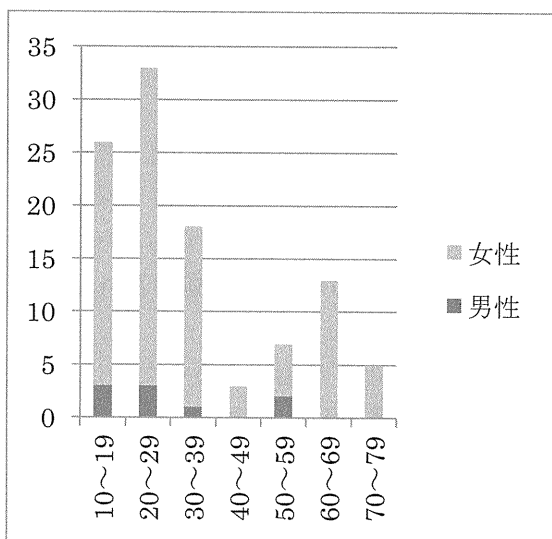


図 4: PCR の報告件数
縦軸は報告例数、横軸は年齢をあらわす

また、50 代以降では 20 症例中 15 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（図 5）。

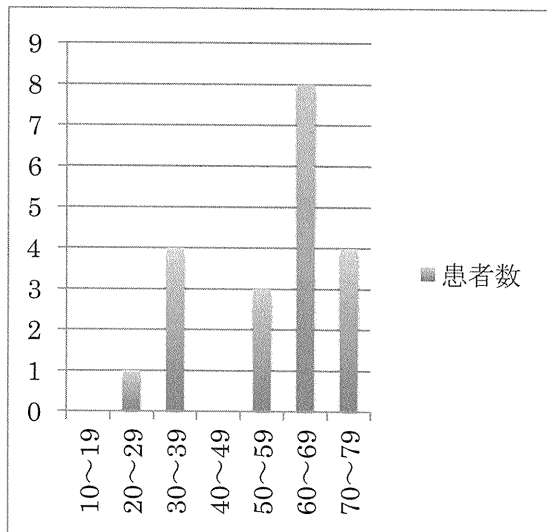


図 5: ステロイド使用者
縦軸は人数、横軸は年齢をあらわす

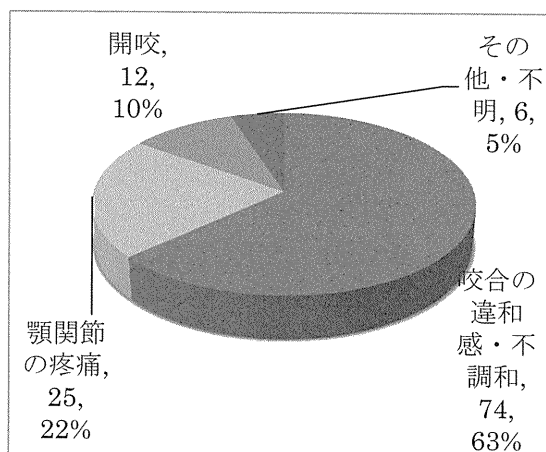


図 6: 医療機関受診時の主訴

医療機関受診時の主訴を図 6 に示す。

咬合の違和感・不調和を主訴に受診した患者は 74 例（63%）と最も多く、ついで顎関節の疼痛が 25 例（22%）、開咬、すなわち前歯が咬めないとするものが 12 例（10%）、その他（審美障害や顎関節の違和感）、あるいは不明の患者が 6 例（5%）であった。

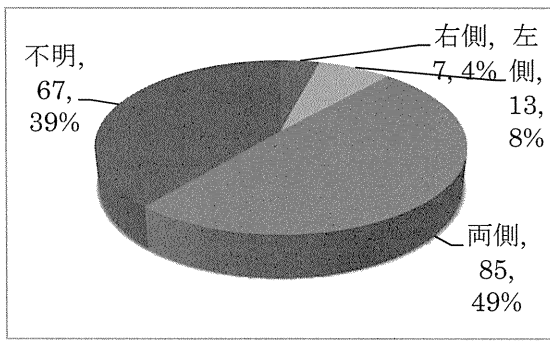


図 7：罹患側

次に罹患側であるが、図 7 に示す。

両側が 85 例 (49%) と最も多く、次いで左側が 13 例 (8%)、右側 7 例 (4%) である。前述のごとく資料が古すぎたりして記録に残っていないという不明例が 67 例 (39%) であった。

それに対する医療者側の初診時診断を図 8 に示す。

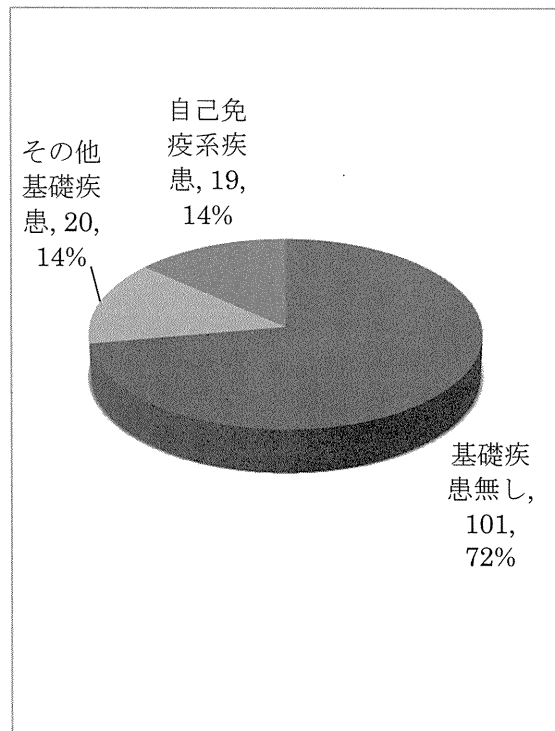


図 9：患者の合併疾患

患者がもつ他の疾患を調べたものが図 9 である。基礎疾患なしが 101 例 (72%)、自己免疫疾患が 20 例 (14%)、そして中咽頭がん、うつ病、進行性筋ジストロフィー等その他の疾患が 19 例 (14%) であった。

最後にそのような患者に施行された治療法を図 10 に示す。

顎関節症に準ずる治療を行ったのは 35 例 (30%)、顎矯正手術を行ったものが 26 例 (22%)、歯科矯正のみが 24 例 (21%)、スクリューを固定源とする顎間牽引、歯科補綴学的治療、下顎頭の切除などのその他の治療が 14 例 (12%)、特に治療を行わなかったものが 17 例 (15%) であった。

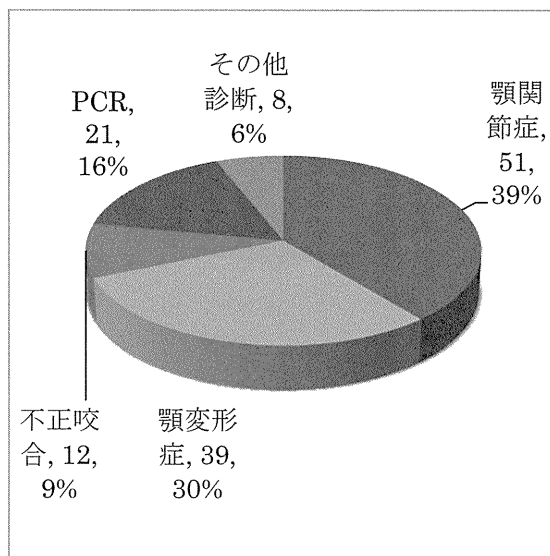


図 8：初診時診断

顎関節症としたものが 51 例 (39%)、ついで顎変形症 39 例 (30%)、不正咬合 12 例 (9%)、PCR 21 例 (16%)、感染症やびまん性硬化性骨髄炎などの「その他の診断」が 8 例 (6%) であった。

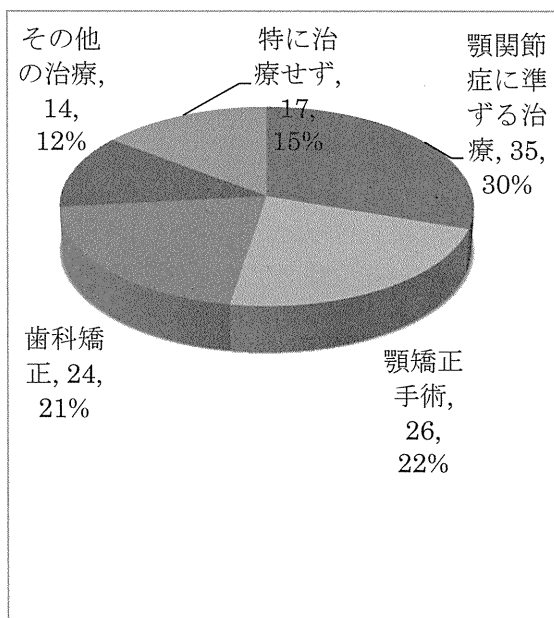


図 10：治療法

2. 血液・尿検体を用いたマーカー検索：

協力施設における検査も含め、複数のサンプル採取が可能だった患者を含め 15 例（のべ 18 例）のサンプル収集を行った。一方、11 名の女性の健常者ボランティアからもサンプルの収集を行った（現在も継続中）。それらを解析した結果、骨粗鬆症を示唆する NTX や DPD が高値の傾向を示し、また CCR1, CCR5 のヒトリガンドである RANTES が健常人ボランティアから得られた値より大幅に変動していた。また途中から調査に加えた TNF- α や $\beta 2$ エストラジオール ($\beta 2$ -Est) の値も若干高い傾向を示した。

本研究の周知が進み、各医療機関より調査を依頼された症例で、症状の進行を自覚している患者に RANTES 値が健常人とほとんど差のない症例もみられた。一方、顎関節症について長期にわたる治療とか経過観察が可能であった 2 例では、当初高値を示した RANTES 値が、顎関節の違和感や疼痛、運動障害などの軽減に伴って同値の下降が確認されている。

3. 血液からの DNA 採取：

依然として検体数が少ないうえに、遺伝子検体の収集は行ったものの、遺伝子の解析に難色を示される例も少なくなく、解析を行うにはいたらなかった。

4. PCR 患者の詳細な経過分析：

当センターを受診し、サンプル回収が可能であった 15 例の患者の症例記載、およびそのうち 1 名の治療経過について詳細な記載を行った。

症例：

患者：55 歳女性

受診日：2009 年 1 月

主訴：左側顎関節の疼痛

既往歴：

左側鼠径ヘルニア（6 歳）にて手術

右側鼠径ヘルニア（10 歳）にて手術

左側顔面神経麻痺（21 歳）

子宮筋腫(24 歳)にて手術

卵巣嚢腫(32 歳)にて手術

（子宮・卵巣全摘）

左側乳癌（44 歳）にて手術

多発性筋炎（49 歳）

心房性期外収縮（49 歳）

心房細動（49 歳）

不整脈（52 歳）カテーテル手術 など

上記手術の後遺症としてイレウスや腸管気腫症などを起こし、腹部臓器癒着を起こしており、癒着剥離術を数度にわたり施行している。プレドニゾロン 25mg、ビタミン D 製剤、抗血小板剤、抗不整脈剤等を多数服用。現病歴：

上記にて闘病中の 46 歳頃より、周囲より口元がおかしいと指摘され、自分でもサ行の発音がおかしくなっているのを自覚したた

め、近医歯科を受診したところ、X線写真上上型のスプリントを製作し、就寝時に装着していたと。

その後両側頬部や耳前部の疼痛も感じるようになったが、他の病気の治療を優先し、とくに歯科を受診することはなかった。

今回、当センターに転院入院した際に歯科口腔外科があることを知り、前医にて製作したスプリントが壊れそうなためにその新製と顎関節の疼痛のために当科を受診した。

現症：

顔貌は対称だが、鳥貌を呈している。両側顎関節部にいつも違和感があり、開閉口時に左側は疼痛があり、復位を伴う関節雑音がみられる。口唇閉鎖のためにオトガイ筋の緊張が常にある。開口量は2横指程度。見かけ上、上顎の前突感が強いが、実際は下顎の著しい後退を呈している。前歯部の水平被蓋（オーバージェット）は6mm、垂直被蓋（オーバーバイト）は0mmの前歯部開咬を示している。臼歯部のみの咬合がみられ、左側上顎臼歯部については動揺がみられ、軽度の咬合痛が存在する。

X線写真所見：

オルソパントモ X線写真では両側下顎頭の著しい矮小化がみられ、その先端は粗造で平坦である。CT写真では両側下顎頭の著しい矮小化がみられ、その先端は粗造で平坦であり、まさにスライスカットをしたような形態になっている（写真1）。

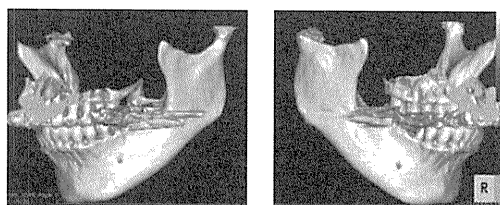


写真1: 患者の下顎骨の3DCT画像

臨床診断：

で両側顎関節が小さいと言われ、単純咬合挙

両側進行性下顎頭吸収、両側変形性顎関節症、および左側上顎大臼歯咬合性外傷

処置及び経過：

初診時にスプリント作製のために上顎歯列の印象採得を行った。再診時、上顎にスタビライゼーション型スプリントを装着し、なるべく長い時間の装着を指示したところ、その2週間後には疼痛は消失し、開口量の増大もみられた。

その後、咬合性外傷により著しい歯の動揺と強度の咬合痛を呈した左側上顎大臼歯の抜歯などを行うこともあったが、概して順調に経過し、その後一度も疼痛の再発は起きておらず、またスプリントに対する大きな咬合意の変化は起こっていない。

また分担研究者の医療施設から顎関節の疼痛等の症状を併発した症例、下顎頭吸収の進行が疑われたが経過観察した症例等の詳細の報告が寄せられており、本報告書の別頁にそれらを示しているので参照されたい。

5. 血液からの DNA 採取：

依然として検体数が少ないうえに、遺伝子検体の収集は行ったものの、遺伝子の解析に難色を示される例も少なくなく、解析を行うにはいたらなかった。

6. CCR1 KO マウスの解析：

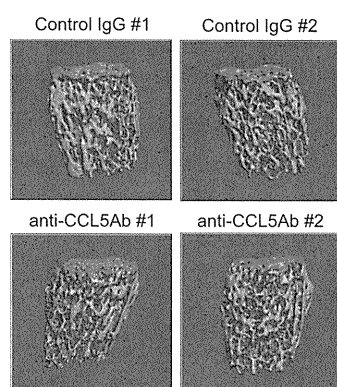
(1). 骨形態解析：

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 11）。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。

(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。



| | BV/TV(%) | Tb.N. (mm ⁻¹) | Tb.Sp.(mm) |
|----------------|----------|---------------------------|------------|
| Control IgG #1 | 0.2351 | 5.5544 | 0.1671 |
| Control IgG #2 | 0.2386 | 5.7803 | 0.1595 |
| anti-CCR5Ab #1 | 0.2013 | 5.3270 | 0.1802 |
| anti-CCR5Ab #2 | 0.1913 | 5.3841 | 0.1758 |

図 11: 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。

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。先駆細胞の多核融合化を誘導できないことまた、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 12）。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。

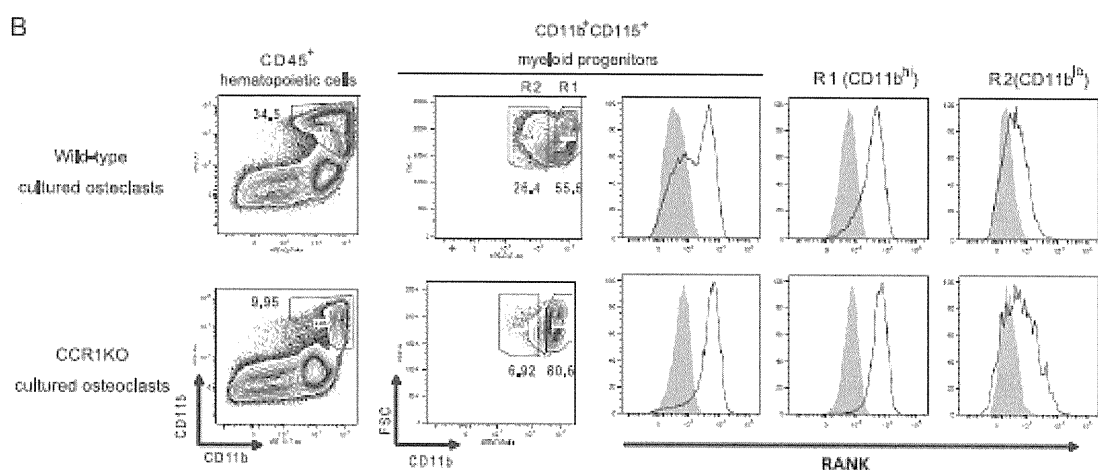


図 12: CCR1KO マウス破骨先駆細胞の表面マーカー解析 CCR1KO ならびに野生型マウス骨髄よりミエロイド系先駆細胞を回収し、増殖因子 M-CSF ならびに破骨細胞分化誘導因子 RANKL 添加条件で培養した。培養 4 日後に $CD45^+$, $CD115^+$, $CD11b^+$ ミエロイド先駆細胞における発現をフローサイトメトリーにて検討した。CCR1KO 細胞では、 $CD115^+$, $CD11b^{dull}$, $CD265^{lo}$ の表現形をもつ単核破骨先駆細胞が減少している。

7. CCR5KO マウスの解析：

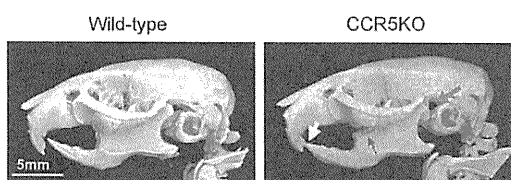


写真 2：野生型マウスと CCR5KO マウスの乾燥頭蓋骨側面写真

CCR5KO では CCR1KO と同様、対照群となる野生型マウス(WT)に比して頭蓋骨など骨格形状がやや変化しており、顎関節にも低形成や変形が見られ、結果として臼歯部前方位の咬合が開咬状態となっていた(写真 2)。

CCR5KO ではむしろ厚い皮質骨をもち、その部分の骨塩量も若干高く、骨梁構造も太い反面、骨梁数は少なかった。また骨組織の成長速度にはあまり差がなく、骨端軟骨の成熟の過程に異常がみられた。CCR5KO が骨組織異常を起こさせることが判明した(デー

タ非公開)。

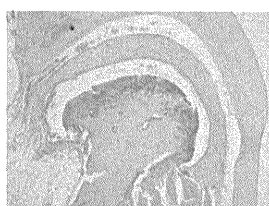
骨組織より採取した骨芽細胞のマーカーでは WT とほとんど差がないが、osteopontin、osteonectin、osteocalcin などはむしろ WT よりも高い値を示し、MMP-3、MMP-13 は低値を示した。RANK-RANKL 系のうち、RANK は著しい低値を示した。WT に比べ、血清 ALP は差がなく、血清 NTX は若干高値であり、血清 TRAP は著しく低値であった。

培養骨芽細胞においては、リガンドの CCL4、CCL5 (ヒト RANTES に相当) は著しく低産生であり、CCL9、CCL11 についてはほとんど変わらなかった。石灰化能では CCR5KO はやや低値を示したが、BALP 活性ではほぼ同等、RANK-RANKL 系のうち、骨芽細胞におけるリガンド RANKL の発現レベルはほとんど変わらなかった。

8. CCR1, CCR5KO マウスの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（写真3）。

モデルマウスにおける骨組織・関節の微細構造の解析をさらに進めることを試みたが、マウスの顎関節は小さい上、適切な標本作製を行うことが非常に困難であり、症例の蓄積は難しかった。



野生型



CCR1KO



CCR5KO

写真3：野生型、および CCR1KO、CCR5KO マウスの顎関節前頭断の病理組織写真

（アルシアンブルー染色 ×10）

9. チェコ・カレル大学所蔵近世チェコ人の頭蓋骨分析：

カレル大学医学部所蔵の頭蓋骨標本の64検体の写真からの分析を行った。なお各項目の測定には適さない検体もあり、各項目の調査数は必ずしも同じにはならなかった。

頭長幅指数では測定できた51検体のうち、超短頭型が9検体、過短頭型が22検体、短頭型が13検体、中頭型が5検体、長頭型が1検体、過長頭型はなく、超長頭型は1検体

であった。

Condylar inclination は、下顎頭矢状後方傾斜角と意識され、2004年に Hwang らによって提唱されたものであり、概ね下顎枝に対する下顎頭の矢状方向かつ後方への角度を示す指標であると考えてよい。顎矯正術後にPCRを起こした群の平均は $25^{\circ} \pm 7^{\circ}$ であったという。

本調査では、平均値は 26.9° であり、標準偏差は 16.6° であった。

また、下顎角は平均値が 117.4° 、標準偏差は 7.5° であった。

FMA は 15.4° で、標準偏差は 9.2° であった。

10. データベースに基づく関節リウマチ適正治療の調査：

(1) 標準内服薬の使用状況：

methotrexate (MTX), sulfasalazine (SSZ) : SSZ・MTX の使用率は75%、77%で、使用薬の殆どを占めた。SSZは、2003年以後の生物製剤導入により中止例が増えた。MTX 継続率は、Kaplan-Meier 分析で1年間で75%、50%になるのが8.5年であった（1387 観察人年）。したがって、内服抗リウマチ薬のみでは、関節リウマチをコントロールできない現状が知られた。

(2) 生物製剤の使用状況：

上記の難点を克服するのが、近年導入された抗サイトカイン治療薬である。長期使用成績は、文献報告が少ないので、当科の追跡調査で継続率を検討した。延べ267人、観察505人年（infixmab /INF 125人 etanalcept/ETA 86人 adalimumab/ADA 20人 tocilizumab/TCZ 19人 abatacept 17人）のKaplan-Meier 継続率は、薬剤の違いによる有意差がなかった。生物製剤の変更はIFX→ETA（23人）が最も多く、2

次無効が主因だった(平均 MTX 投与量は 6 mg/W)。

(3) 治療に伴う合併症：

(i)ウイルス性肝炎：悪化例はなかった。現在、B型肝炎の抗体検査を可能な限り多くの症例に実施し、免疫抑制治療による再活性化を警戒する体制をとっている。

(ii)結核：2004年1月までに3人発症した一方、INH予防内服を開始した2004年2月以降の発症はなかった。

(iii)非結核性抗酸菌症：発症リスクの高い慢性下気道炎症患者は、RA患者の13%を占め、その25%が喀痰PCRまたは培養陽性であることを報告した。以来、発症モニターを続けているが、生物製剤使用者、菌陽性者を含む全RAにおいて、発症者はない。

(iv)ニューモシステイス肺炎(PCP)：データベース上のRA患者のPCP全9例の診療情報を、当科の非関節リウマチ(対照膠原病)患者のPCP13例と比較検討した。

・RA(6/7)：6例が呼吸不全による紹介搬送

全例にMTX \leq 12.5 mg/週投与、うち4例に生物学製剤、IFX 2、ETN 1、TCZ 1

・対照膠原病(13)：ステロイド治療中

RA vs 膠原病での臨床情報

血清BDグルカン値：289 \pm 234 vs 1109 \pm 1031 pg/ml、(p=0.02)

人工呼吸器使用率：4/7 vs 3/13、(NS)

死亡頻度：3/7 vs 0/13 (p=0.03)

RA-PCPでは、ニューモシステイス菌体量が少なく、RA肺の共存と考えられる広範な病変を認め、呼吸不全からの回復が遅れ、続発した細菌性肺炎による死亡が目立った。対照膠原病患者と明確に異なり、MTXおよび生物製剤の使用者における、重要な監視課題であることが知られた。

D: 考察

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 点である。

1. PCR 実態調査について：

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。しかし有効回収率は 17% にすぎず、20% にも満たなかった。アンケートの項目や回答方法等を可能な限り簡便化したにもかかわらず、このように低い回収率になったのは、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、骨関節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。

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診断基準がまちまちであり、認識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 9 例、女性 98 例、そして性別不明の 65 例の合計 172 症例が登録されたが、従来からの、海外での文献におい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 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。

この結果に関してはなぜ 40 代から 50 代の患者が少ないのか考える必要がある。前述のごとく、この年代は仕事や家庭等様々なことで多忙な年代であり、よほど困らないと医療機関を受診しない年代であるとも考えられる。この「二相性の分布」が本当にそうなのかは現状では確かめるべくもないが、諸外国等のデータが蓄積され、発表されるのを待とうと思う。

医療機関受診時の主訴で最も多かったのは、咬合の違和感・不調和であり、74 例 (63%) を占めた。ついで顎関節の疼痛が 25 例 (22%) と続いた。顎関節に変形がみられ、疼痛を伴うものは日本顎関節症学会の分類では顎関節症 IV 型に分類されることになる。このような診断の複雑さがこの疾患の難しさを端的に表している。

また前歯が出ている、出っ歯である、という審美的要求に基づく受診もあり、機能的には患者が困っていない側面もあることがわかった。若干重複するが、下顎後退のための睡眠時無呼吸、感染症、前歯で咬めないなどの訴えもあった。

罹患側は両側が 85 例 (49%) であり、左側 13 例 (8%)、右側 7 例 (4%) であった。左側の方が多いが、おそらくこれは考慮しなくてよいと考える。この結果から、PCR は両側性に発生すると考えてよく、局所的な要因ではなく、やはり全身的な因子からの影響を受けていることが示唆された。

これらの患者が医療機関を受診した際の初診時診断の中で最も多いのは、顎関節症 51 例（39%）であった。顎関節症と診断されるには、「関節雑音」「顎関節や咀嚼筋の疼痛」「開口障害、または顎運動異常」などの中のいずれかの主症状があったはずであり、実際、「変形性顎関節症」の診断がついていたのが 3 例含まれていた。これらの顎関節症の症状が PCR の関連症状として発症しうることをこのアンケート結果から我々は知らなければならない。この事実はアンケートにおいて無回答、もしくは症例なしとの結果を寄せた医療施設にも PCR 患者が存在していた可能性を示唆している。

顎変形症の初診時診断を受けた症例は 39 例（30%）と続いた。これは PCR 患者が概して、いわゆる Angle 分類の 2 級で、かつ前歯部開咬を示すことからの診断であろう。アンケート結果では「咬めない」「歯列不正」を訴えた患者の多くがこの診断になっており、続く不正咬合 12 例（9%）と関連すると思われる。この二つの診断を合計すると、51 例（39%）と、顎関節症との診断と同数になる。すなわち、何らかの顎関節異常と顎形態の不調和を含む咬合異常を示すことが明らかになった。また初診時から PCR の診断がついたものが 21 例存在している。当センター受診例 14 例含まれてはいるが、それでも、原因不明の下顎頭吸収という診断も含め、7 例の PCR の診断がなされていることは特筆に値する。その他、びまん性硬化性下顎骨髄炎や感染症の初診時診断を受けたが、おそらく併発していた PCR が後ほど発見されたと思われる例も寄せられていた。

合併している基礎疾患の調査項目では、基礎疾患がない者 101 例（72%）であった。自己免疫疾患は 19 例（14%）含まれており、2 例を除き、ステロイドの内服がなされていた。ちなみにステロイド不使用のうち 1 例はリウマトレックスを服用中であり、ステロイ

ドの使用既往があるものと考えられた。その他の基礎疾患は 20 例（14%）であり、その内訳は、中咽頭癌、うつ病、下肢静脈瘤、骨粗鬆症、呼吸器疾患、C 型肝炎、進行性筋ジストロフィー、高脂血症、腎排泄系疾患、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎などが記載されていた。また疾患ではないが、習慣的頰杖や睡眠態癖、猫背、口呼吸などのいわゆる悪習癖を指摘されている例も 3 例にみられた。

本症に関する治療では、最も多かったのは顎関節症の治療に準ずる治療 35 例（30%）であった。すなわち機能訓練やスプリント治療などがおもに行われたと思われる。スプリント使用などによる咬合の安定は PCR の治療、もしくは進行停止に一定の効果があると言われており、ほぼこの原則に沿った治療と言える。これに準ずる治療として、補綴治療、スプリント装着、顎間固定用スクリューを用いた牽引、ゴム牽引など、特記事項として挙げてある回答もみられた。

ついで顎矯正手術 26 例（22%）、歯科矯正治療 24 例（21%）が続いている。もともと咬合異常やその違和感などを主訴とし、また顎変形症の手術的治療を主目的に受診する患者が多いことから、最終的な目的に至る手段そのものを治療の手段として用いていることがわかる。その他には顎関節炎の診断において下顎頭の離断を行ったとする回答も得られた。

本アンケートにおいて得られたことは多くの示唆を含む。

顎関節症などとの区別が明確に付けられないことが多く、この疾患概念の曖昧さ、さらにわが国独特といわれる顎関節症の概念、つまり具体的には変形性顎関節症の診断にも議論を投げかけ得る。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示されていないため、各医療機

関がとり得る「最善の治療」がなされているということがわかった。

しかし、アンケートに回答していない医療機関の中には、単なる顎関節症や顎変形症、不正咬合などと診断し、結果として不適切な治療がなされている国民がいることは想像に難くない。

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た。

2. 血液・尿検体を用いたマーカー検索:

より多くの年代でデータを集めることを目標としたが、結論を出すためには、依然として検体数が少なく、強調できる知見は多くない。

血液検体を解析した結果、骨粗鬆症を示唆する値を示し、またケモカインリガンドである RANTES は n 数が増加しても健常人の値と比べて依然として高値を示す等、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示唆された。他にも尿中のクレアチニン補正後の DPD や NTX の値が若干高めの値を示した。しかし、統計学的に解析するには、患者も含め、年齢群をそろえた十分な数の negative control が必要になる。その対策として倫理規定に注意しながら、さらに多くの健常者ボランティアを募り、各年齢群の検体を収集していく必要がある。

ケモカインは炎症に関与していることから、TNF- α について調査を行った。コントロール群に比べ、PCR 群は概して高い傾向を示した。とくに 50 代以降のステロイド使用の女性に明らかに高いことがわかった。TNF- α 高値のデータより炎症性疾患の存在は疑う余地はないが、本症への影響の程度について論ずるほどの証拠は得られていない。CCR1, CCR5 双方の KO マウスの顎関節の

組織切片からの所見では明らかな炎症が見られなかったことから、この相反する結果を考察することは非常に困難であるが、もしかすると PCR はいくつかのタイプに分かれる可能性もあるのではないかという考察も成り立つ。

また昨今の論文において、 $\beta 2$ エストラジオールは重要な予後判定因子といわれている (Gunson, MJ: Am J Orthodont Dentfac Orthopedics 136: 2009)。概して PCR 群に高値を示すケースがみられたが、コントロール群でも高値を示すこともあり、また閉経後の PCR 群や男性では当たり前ではあるが、同値は低値を示す。しかし、 $\beta 2$ -Est は検体採取時に月経周期をそろえるのが非常に困難であり、海外との経口避妊薬の服用状況の違いなどもありマーカーとして利用するのは困難であるとの印象であった。

また若年例では骨形成・骨吸収の両指標とも高値を呈する高回転型を示すが、50 代以降の患者は双方ともに低い、いわゆる低回転型を呈す。これら疫学調査において得られた二相性の分布を骨形成・骨吸収マーカーの解析によりほぼ再現し得た。

治療に伴う RANTES 値の下降が確認されたことから、同値や NTX、DPD など、そして TNF- α 、 $\beta 2$ -Est などは本症発症のメカニズムの中のある過程を反映していると考えるのが適切であると思われる。

しかし、このきわめて客観的な所見は PCR のプロファイリングを行う上で重要な成果といえる。また、ケモカインと顎関節異常という新たな関連を示唆するデータが得られたことの意義は非常に大きい。

本研究で今までに観察し得た症例より、複合概念である PCR を

1. 低形成であるもの:

すなわち RANTES 値と $\beta 2$ -Est が高い若年者に見られ、高い骨代謝回転型を示す