

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K19088

研究課題名（和文）変形性顎関節症の原因となる下顎頭軟骨細胞老化メカニズムの解明

研究課題名（英文）Elucidation of aging mechanism of mandibular condylar chondrocytes causing osteoarthritis of the temporomandibular joint

研究代表者

北見 恩美（KITAMI, Megumi）

新潟大学・医歯学系・特任助教

研究者番号：00834772

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：緩和困難な自発痛や咬合痛を伴う変形性顎関節症の原因の一つに加齢が挙げられるが、軟骨組織の加齢変化のメカニズムは明らかではない。加齢と共に保水性や粘弾性を担う細胞外基質プロテオグリカンが減少することにより、下顎頭軟骨の弾力は劣化することが報告されているが、なぜプロテオグリカンが減少するのかは依然不明である。プライマリーシリアは細胞外環境情報を受容するアンテナ様細胞小器官である。本研究では、加齢と共に下顎頭軟骨の軟骨成分が減少することと相関しプライマリーシリアの発現が減少することを明らかにした。以上により、軟骨組織の加齢変化にはプライマリーシリアを介した情報伝達が関連している可能性が考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

変形性顎関節症は顎関節の構成組織である下顎頭軟骨の破壊を特徴とし、若年者の顎関節症と比較し高齢者に多くみられる。重症例として長期間の治療を要するケースが多い。加齢と共に関節軟骨の緩衝能が劣化することが報告されているが、加齢による緩衝能劣化のメカニズムは依然として明らかになっていない。本研究では加齢に伴う顎関節の形態変化と、細胞機能を維持するシグナル受容体であるプライマリーシリアの発現変化を観察した。本研究は顎関節の老化メカニズムの一端を明らかにすることで、変形性顎関節症を予防する新たな戦略の基礎となる研究であると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Osteoarthritis of the TMJ (TMJ-OA) increases with aging, is often a serious case and significantly reduces the patient's QOL. It has been reported that the viscoelastic properties of mandibular condylar cartilage deteriorate with aging, but the mechanism has not been clarified. Primary cilia are antenna-like organelles that receives extracellular environmental information. In this study, it was clarified that the extracellular matrix of cartilage of mandibular condyle decreases with aging, and the expression of primary cilia also decreases. These results suggest that the aging change of cartilage tissue is related to the signal transmission via the primary cilia.

研究分野：歯科補綴学

キーワード：顎関節 老化 プライマリーシリア 変形性顎関節症

1. 研究開始当初の背景

緩和困難な自発痛や咬合痛を伴う**変形性顎関節症の原因の一つに加齢が挙げられるが、軟骨組織の加齢変化のメカニズムは明らかではない。**

顎関節を構成する下顎頭軟骨は、咬合力等の機械的負荷に対する緩衝材としての役割を果たしているが、加齢に伴い保水性や粘弾性を担う細胞外基質プロテオグリカンが減少することにより、その緩衝能が劣化すると考えられている。しかしながら、**なぜ加齢によりプロテオグリカンの産生が減少するのかは明らかになっていない。(図1)**

一方、プライマリーシリア(以下シリア)は細胞表面に突出する細胞小器官で、細胞外の環境を細胞内に伝達するアンテナ様の役割を持つ。研究代表者らはこれまで、下顎頭軟骨特異的にシリアを欠失した遺伝子改変マウスでは、軟骨細胞数、細胞外基質の分泌が減少し、老齢マウス下顎頭軟骨に類似した表現型を示すことを見出した<sup>1)</sup>。

以上より、本研究では**加齢による細胞外基質産生能の低下にシリアを介したシグナルが関与しているのではないか**という仮説のもと、下顎頭軟骨の加齢に伴う基質産生の変化とシリアの発現率を組織学的に探索した。

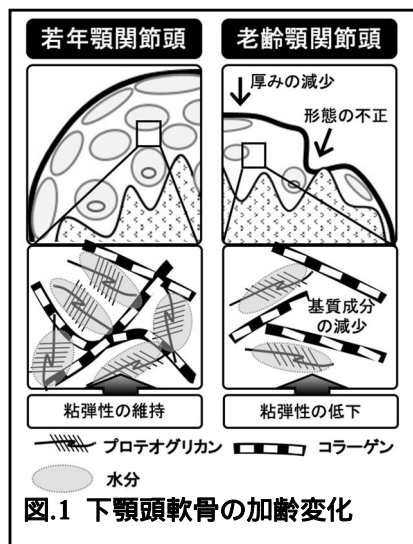


図.1 下顎頭軟骨の加齢変化

2. 研究の目的

本研究の目的は、下顎頭軟骨の加齢に伴うシリアの発現率と、細胞外基質産生変化の相関を明らかにし、下顎頭軟骨の加齢変化におけるシリアの役割を明らかにすることである。

3. 研究の方法

- (1) 加齢に伴う下顎頭軟骨の形態変化の解析
- (2) 細胞外基質産生に関わる細胞小器官ゴルジ体の形態解析
- (3) 下顎頭軟骨の加齢に伴うシリアの組織内発現率の解析

4. 研究成果

- (1) 野生型マウス(C57BL/6J, 5, 15, 26, 52, 78週齢)の下顎頭の加齢に伴う形態変化をマイクロCTを用いて観察し、下顎頭の骨密度を測定した。5週齢の下顎頭は石灰化した組織が少なく下顎頭の骨表面が粗造であり骨密度が低いのに対して、15週齢、26週齢と週齢を重ねるに従い骨表面は滑沢となり骨密度が増加していくことが明らかとなった。26週齢以降は骨密度の増加は見られず一定となった。78週齢では骨表面の陥凹といった形態変化が認められた(図2)。

さらに、上記の各週齢における顎関節組織を摘出し、脱灰パラフィン包埋標本を作製した。軟骨細胞外基質であるプロテオグリカンが赤色に染色される Safranin-O 染色にて下顎

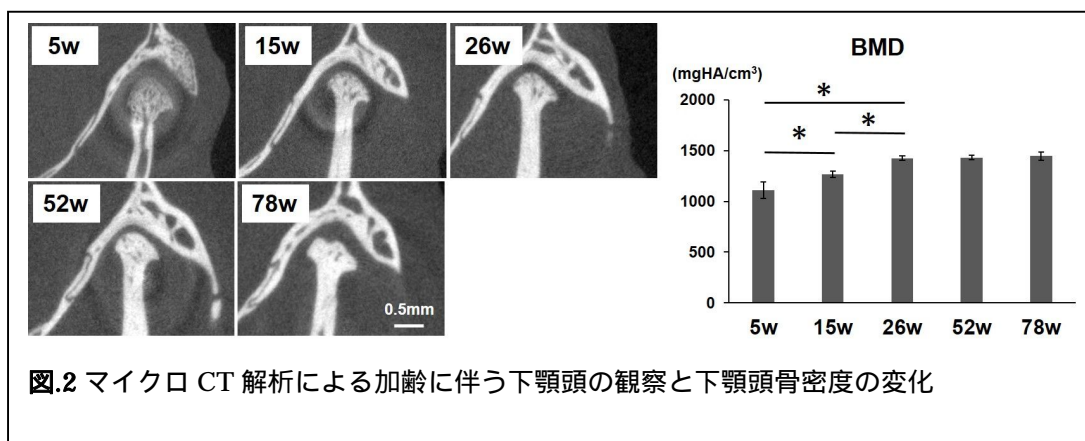


図.2 マイクロCT解析による加齢に伴う下顎頭の観察と下顎頭骨密度の変化

頭軟骨を組織学的に観察した。加齢にしたがい Safranin-O に染色される軟骨組織が減少するとともに、軟骨層の菲薄化がみられた。若年齢マウス(5, 15週齢)では豊富な肥大軟骨細胞が確認されるのに対し、老齢マウス(26, 52, 78週齢)では加齢にしたがい細胞数の減少と細胞面積の減少が認められた(図3)。

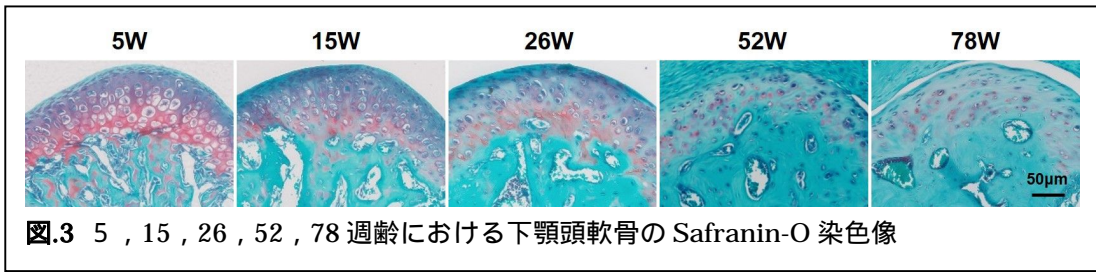


図.3 5, 15, 26, 52, 78 週齢における下顎頭軟骨の Safranin-O 染色像

(2) 下顎頭軟骨の脱灰凍結切片を作成し、抗 GM130 抗体を用いた免疫染色で検出される軟骨基質産生に重要なゴルジ体の加齢に伴う形態変化を観察した。5、15 週齢では核周囲の細胞質に広範に広がるゴルジ体が認められるのに対し、26 週齢ではゴルジ体の縮小が確認され始め、その後加齢に従い縮小していく様子が認められた (図 4)。

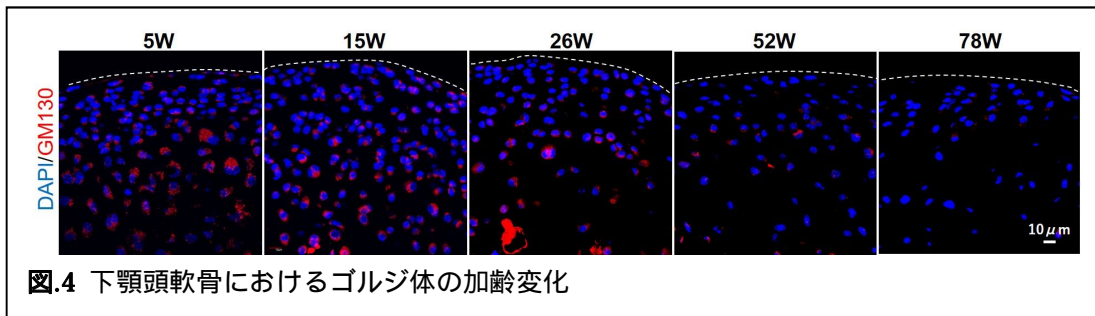


図.4 下顎頭軟骨におけるゴルジ体の加齢変化

(3) 下顎頭軟骨の脱灰凍結切片を作成し、抗 acetylated tubulin 抗体および抗 Gamma tubulin 抗体を用いた免疫染色にてシリア陽性細胞率を算出したところ、5 週齢では 44%であったのに対し 15 週齢では 17.8%、78 週齢では 1.6%にまで減少していた (図 5)。

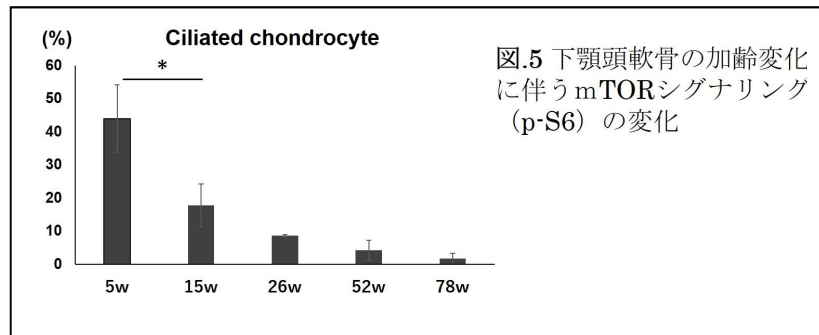


図.5 下顎頭軟骨の加齢変化に伴う mTORシグナリング (p-S6) の変化

以上の結果より、加齢に伴う下顎頭軟骨の形態変化および軟骨基質プロテオグリカンの産生低下と、シリアの発現に相関が見られたことから、軟骨組織の加齢変化にシリアを介したシグナル伝達が関与している可能性が示唆された。軟骨組織の加齢変化のメカニズムを明らかにするため、今後は加齢に伴うシリアを介したシグナリングの変化についてさらなる探求が必要と考えられる。

< 文献引用 >

1. Kitami M, et al. IFT20 is required for the maintenance of cartilaginous matrix in condylar cartilage. *Biochem Biophys Res Commun.* 2019;509(1):222-226.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 0件）

|   |                         |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Yamaguchi Hiroyuki, Terajima Masahiko, Kitami Megumi, Wang Jianbo, He Li, Saeki Makio, Yamauchi Mitsuo, Komatsu Yoshihiro | 4. 巻<br>533             |
| 2. 論文標題<br>IFT20 is critical for collagen biosynthesis in craniofacial bone formation   | 5. 発行年<br>2020年         |
| 3. 雑誌名<br>Biochemical and Biophysical Research Communications   | 6. 最初と最後の頁<br>739 ~ 744 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1016/j.bbrc.2020.09.033   | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難  | 国際共著<br>該当する            |

|  |                           |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名<br>Yang Jingwen, Kitami Megumi, Pan Haichun, Nakamura Masako Toda, Zhang Honghao, Liu Fei, Zhu Lingxin, Komatsu Yoshihiro, Mishina Yuji | 4. 巻<br>14                |
| 2. 論文標題<br>Augmented BMP signaling commits cranial neural crest cells to a chondrogenic fate by suppressing autophagic -catenin degradation    | 5. 発行年<br>2021年           |
| 3. 雑誌名<br>Science Signaling  | 6. 最初と最後の頁<br>9368 ~ 9368 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1126/scisignal.aaz9368   | 査読の有無<br>有                |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>該当する              |

|  |                         |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Kitami Megumi, Yamaguchi Hiroyuki, Ebina Masayuki, Kaku Masaru, Chen Di, Komatsu Yoshihiro | 4. 巻<br>509             |
| 2. 論文標題<br>IFT20 is required for the maintenance of cartilaginous matrix in condylar cartilage       | 5. 発行年<br>2019年         |
| 3. 雑誌名<br>Biochemical and Biophysical Research Communications  | 6. 最初と最後の頁<br>222 ~ 226 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1016/j.bbrc.2018.12.107  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>該当する            |

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号) | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号) | 備考 |
|---------------------------|-----------------------|----|
|---------------------------|-----------------------|----|

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関                             |  |  |  |
|---------|-------------------------------------|--|--|--|
| 米国      | UT Health Science Center at Houston |  |  |  |