

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20390523

研究課題名(和文) 外因刺激に対する下顎頭軟骨各層の応答と進行性下顎頭吸収との関わり

研究課題名(英文) Responses of each cartilaginous layer of mandibular condyle to external stimuli and the association with progressive condylar resorption

研究代表者

丹根 一夫 (TANNE KAZUO)

広島大学・医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号：30159032

研究成果の概要(和文)：

顎関節において、重要な潤滑物質である SZP の発現調節機構が明らかとなった。すなわち、SZP は下顎頭の表層軟骨において、他の各層の軟骨に比較して高発現していた。また、炎症性サイトカイン IL-1 $\beta$ により、その発現は抑制されることから、炎症下での顎関節では、SZP による潤滑能の低下が生じ、軟骨破壊へとつながる可能性が明らかとなった。一方、滑液中の潤滑物質であるヒアルロン酸は、関節への機械的負荷により低分子化する。その際に、IL-1 $\beta$ の働きにより、低分子ヒアルロン酸の発現亢進が生じるとともに、ヒアルロン酸分解酵素の発現亢進が生じることが明らかとなり、ヒアルロン酸低分子化のメカニズムの一部が示された。さらに、低分子ヒアルロン酸が滑膜細胞表面レセプターを介して作用し、SZP の発現に影響を及ぼすことも明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：

The modulation process of superficial zone protein (SZP), a lubricant in temporomandibular joint, was clarified. The expression of SZP was higher in the superficial layer of condylar cartilage than that in other layers. In addition, the expression of SZP was down-regulated by a proinflammatory cytokine, IL-1 $\beta$ , leading to a deterioration of lubrication and degenerative changes in TMJ under inflammatory conditions. Hyaluronan (HA) is a major lubricant in synovial fluid, and low molecular weight HA was accumulated in TMJ under excessive loading. The synthesis of low molecular weight HA in synovial membrane cells was up-regulated by IL-1 $\beta$ . At the same time, the degradation of HA by hyaluronidase expressed by synovial membrane cells was enhanced by IL-1 $\beta$ . These results suggested a possible mechanism of fragmentation of HA in TMJ under inflammatory conditions. In addition, it was suggested that low molecular weight HA affects the expression of SZP through cells surface receptor in synovial membrane cells.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	5,800,000	1,740,000	7,540,000
2009年度	5,200,000	1,560,000	6,760,000
2010年度	3,100,000	930,000	4,030,000
年度			
年度			
総計	14,100,000	4,230,000	18,330,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・矯正・小児系歯学

キーワード：Superficial zone protein, 下顎頭, 軟骨, 成長因子, サイトカイン

## 1. 研究開始当初の背景

下顎頭軟骨の吸収を伴う変形性顎関節症(OA)は、下顎骨の変形に伴う咬合異常、顎機能障害、顔貌の不調和を引き起こす疾患であり、歯科臨床において治療が困難な疾患のひとつである。また、吸収や変形を呈した軟骨を修復することは困難であり、再発の可能性も高いとされている。したがって、OAにおける軟骨破壊の機序を明らかにすることは、治療法の探求へと発展し、学術的にも歯科医学の進歩に大きく資するものと思われる。

正常な顎関節では下顎頭と下顎窩の間に関節円板が介在しており、これがクッションの役割を果たし、負荷に対する緩衝作用を発揮している。OAの発症の多くが、関節円板の前方転位に引き続いて起こることから、下顎頭に加わる機械的負荷がOA発症の重要因子と考えられている。一方、生理的な条件下においてもOAの発症や進行が起こることから、未知の因子が機械的負荷との相乗作用により軟骨破壊に関与しているものと推察される。

## 2. 研究の目的

下顎頭は表層から線維層、軟骨層、骨層に分けられ、それぞれが異なる機能を発揮しながら、様々な下顎運動により生じる機械的刺激に応答している。下顎頭の破壊は各層の機能のいずれを失っても生じる可能性があることから、各層における代謝異常の発現機序を明らかにすることは、下顎頭軟骨破壊機序の全貌を明らかにする上できわめて重要であると考えられる。そこで、本研究では下顎頭軟骨表層(線維層)、中間層(軟骨層)、下層(軟骨下骨層)の機能に着目し、各層への外因刺激とOA病態との関連を明らかにするとともに、これを制御しうる関連因子を探索することを目的とし、本実験を計画した。

## 3. 研究の方法

下顎頭軟骨を単一の組織としてではなく、表層(線維層)、中間層(軟骨層)、下層(軟骨下骨層)の3層の複合体として扱い、各層の機能に着目し、その障害とOA病態との関連を明らかにする。

下顎頭表層より線維層由来線維芽細胞を抽出し、下顎頭におけるSZPの発現様式およびSZPの機能解析を行う。

また、中間層より軟骨細胞を抽出し、細胞の異化反応および生存活性に及ぼす細胞外基質の脆弱化の影響について検討する。

最後に、軟骨下骨層への侵襲が軟骨細胞に及ぼす影響を、軟骨下骨層由来骨芽細胞

と軟骨細胞を共培養し、検討を行う。

## 4. 研究成果

顎関節において、重要な潤滑物質であるSZPの発現調節機構が明らかとなった。すなわち、SZPは下顎頭の表層軟骨において、他の各層の軟骨に比較して高発現していた。また、炎症性サイトカインIL-1 $\beta$ により、その発現は抑制されることから、炎症下での顎関節では、SZPによる潤滑能の低下が生じ、軟骨破壊へとつながる可能性が明らかとなった。一方、滑液中の潤滑物質であるヒアルロン酸は、関節への機械的負荷により低分子化する。その際に、IL-1 $\beta$ の働きにより、低分子ヒアルロン酸の発現亢進が生じるとともに、ヒアルロン酸分解酵素の発現亢進が生じることが明らかとなり、ヒアルロン酸低分子化のメカニズムの一部が示された。さらに、低分子ヒアルロン酸が滑膜細胞表面レセプターを介して作用し、SZPの発現に影響を及ぼすことも明らかとなった。

## 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14件)

1. Kitamura R., Tanimoto K., Tanne Y., Kamiya T., Huang YC., Tanaka N., Tanaka E., Tanne K. Effects of mechanical load on the expression and activity of hyaluronidase in cultured synovial membrane cells. J Biomed Mater Res A, 査読有, 2010, 92, 87-93
2. Kamiya T., Tanimoto K., Tanne Y., Lin YY., Kunimatsu R., Yoshioka M., Tanaka N., Tanaka E., Tanne K. Effects of mechanical stimuli on the synthesis of superficial zone protein in chondrocytes. J Biomed Mater Res A, 査読有, 2010, 92, 801-805
3. Tanimoto K., Kitamura R., Tanne Y., Kamiya T., Kunimatsu R., Yoshioka M., Tanaka N., Tanaka E., Tanne K. Modulation of hyaluronan catabolism in chondrocytes by mechanical stimuli. J Biomed Mater Res A, 査読有, 2010, 93, 373-380
4. Tanimoto K., Yanagida T., Tanne Y., Kamiya T., Huang YC., Mitsuyoshi T., Tanaka N., Tanaka E., Tanne K.

- Modulation of hyaluronan fragmentation by interleukin-1 beta in synovial membrane cells. *Ann Biomed Eng*, 査読有, 2010, 38, 1618-1625
5. Lin YY., Tanaka N., Ohkuma S., Iwabuchi Y., Tanne Y., Kamiya T., Kunimatsu R., Huang YC., Yoshioka M., Mitsuyoshi T., Tanimoto K., Tanaka E., Tanne K. Applying an excessive mechanical stress alters the effect of subchondral osteoblasts on chondrocytes in a co-culture system. *Eur J Oral Sci*, 査読有, 2010, 118, 151-158
  6. Tanimoto K., Kitamura R, Tanne Y, Kamiya T, Kunimatsu R, Yoshioka M, Tanaka N., Tanaka E, Tanne K. Modulation of hyaluronan catabolism in chondrocytes by mechanical stimuli. 査読有 *J Biomed Mater Res A*. 2010, 93, 373-380
  7. Kamiya T., Tanimoto K., Tanaka N., Tanne Y., Lin Y., Kunimatsu R., Tanaka E., Tanne K. Effect of mechanical stimuli on synthesis of superficial zone protein in Chondrocytes. 査読有, *Journal of Biomedical Materials Research A*, 2010, 92, 801-805
  8. Kitamura R, Tanimoto K., Tanne Y, Kamiya T, Huang YC, Tanaka N., Tanaka E, Tanne K. Effect of mechanical load on the expression and activity of hyaluronidase in cultured synovial membrane cells, 査読有, *J Biomed Mater Res A*. 2009, 92, 87-93
  9. Lin YY, Tanaka N., Ohkuma S, Kamiya T, Kunimatsu R, Huang YC, Yoshioka M, Mitsuyoshi T, Tanne Y, Tanimoto K., Tanaka E, Tanne K. The mandibular cartilage metabolism is altered by damaged subchondral bone from traumatic impact loading. *Ann Biomed Eng*. 査読有, 2009, 37, 1358-1367
  10. Nishio C, Tanimoto K., Hirose M, Horiuchi S, Kuroda S, Tanne K., Tanaka E. Stress analysis in the mandibular condyle during prolonged clenching: a theoretical approach with the finite element method, *Proc Inst Mech Eng H*, 査読有, 2009, 739-748
  11. Tanne Y., Tanimoto K., Tanaka N., Ueki M., Lin Y.Y., Ohkuma S., Kamiya T., Tanaka E., Tanne K. Expression and activity of Runx2 mediated by hyaluronan during chondrocyte differentiation, *Archives of oral biology*, 査読有, 2008, 53, 478-487
  12. Tanaka E., Iwabuchi Y., Rego E.B., Koolstra J.H., Yamano E., Hasegawa T., Kawazoe A., Kawai N., Tanne K. Dynamic shear behavior of mandibular condylar cartilage is dependent on testing direction, *Journal of Biomechanics*, 査読有, 2008, 41, 1119-1123
  13. Ueki M., Tanaka N., Tanimoto K., Nishio C., Honda K., Lin Y.Y., Tanne Y., Ohkuma S., Kamiya T., Tanaka E., Tanne K. The effect of mechanical loading on the metabolism of growth plate chondrocytes, *Annals of Biomedical Engineering*, 査読有, 2008, 36, 793-800
  14. Tanne K. Degenerative changes of articular cartilage in association with mechanical stimuli, *Japanese Dental Science Review*, 査読有, 2008, 44, 38-47
- [学会発表] (計 12 件)
1. 光吉智美, 神谷貴志, 谷本幸太郎, 丹根由起, 丹根一夫 CD44 受容体を介したヒアルロン酸による PRG4 の発現調節、第 23 回一般社団法人 日本顎関節学会総会・学術大会 7 月 24-25 日、2010、船堀
  2. 神谷貴志, 谷本幸太郎, 丹根由起, 岩渕泰憲, 光吉智美, 丹根一夫 過度な機械的刺激による下顎頭軟骨の変性、破壊機序、第 23 回一般社団法人 日本顎関節学会総会・学術大会、7 月 24-25 日、2010、船堀
  3. Mitsuyoshi T., Kamiya T., Tanimoto K., Tanne Y., Kunimatsu R., Yoshioka M., Yu-Ching H., Sano R., Matsuda Y., Yoshimi Y., Tanne K. Modulation of PRG4 expression by hyaluronan through CD44 receptor, The 88th International Association for Dental Research, 14-17, July 2010, Barcelona, Spain
  4. 丹根一夫 顎変形症における顎関節の重要性 顎変形症の発現に対する顎関節症の関わり :: 第 20 回日本顎変形症学会総会 6 月 15-16 日、2010、札幌
  5. Shirakura M., Tanne K. Significance of HIF-1 signaling pathway in condylar cartilage with osteoarthrotic changes. The 2nd International Conference on Orthodontic Treatment, 3-4 April 2010, Hiroshima

6. 丹根由起、谷本幸太郎、山野玲子、神谷貴志、光吉智美、丹根一夫、滑膜細胞のヒアルロン酸分解酵素活性に対する炎症性サイトカインの影響、第 22 回日本顎関節学会総会・学術大会 7 月 25-26 日 2009、船堀
7. 光吉智美、神谷貴志、谷本幸太郎、田中伸明、丹根由起、丹根一夫 Superficial zone protein 発現に対するヒアルロン酸の影響：第 22 回一般社団法人 日本顎関節学会総会・学術大会 7 月 25-26 日 2009、船堀
8. 神谷貴志、谷本幸太郎、田中伸明、丹根由起、大熊 暁、国松 亮、黄 郁苓、吉岡基子、丹根一夫、顎関節における潤滑蛋白 superficial zone protein の発現と調節機構について、6 月 15 日、2009、第 41 回広島大学歯学会、広島
9. Tanne K.: Induction mechanisms of temporomandibular joint disorder (TMD) and the problem-oriented therapeutic system. The 7<sup>th</sup> Congress of Iranian Association of Orthodontists, Hamadan, May 21, 2009, Iran
10. 丹根由起、谷本幸太郎、田中伸明、神谷貴志、丹根一夫 低分子ヒアルロン酸による Runx2 発現抑制における Smad の関与：第 21 回日本顎関節学会、7 月 26-27 日、2008、大阪
11. 白倉麻耶、谷本圭司、田中栄二、田中伸明、谷本幸太郎、丹根一夫 軟骨分化過程における hypoxia-inducible factor-1 標的遺伝子発現：第 21 回日本顎関節学会 7 月 26-27 日、2008、大阪
12. 神谷貴志、谷本幸太郎、田中伸明、丹根由起、田中栄二、丹根一夫 顎関節表層の SZP とリン脂質との相互作用、第 21 回日本顎関節学会、7 月 26-27 日、2008、大阪

[図書] (計 1 件)

1. 丹根一夫 顎関節症の矯正歯科治療, 歯科矯正学 (相馬邦道、他編) 第 5 版, 医歯薬出版 (東京), 326-331, 2008.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

丹根 一夫 (TANNE KAZUO)  
 広島大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授  
 研究者番号：30159032

### (2) 研究分担者

谷本 幸太郎 (TANIMOTO KOTARO)  
 広島大学・病院・講師  
 研究者番号：20322240

田中 伸明 (NOBUAKI TANAKA)  
 広島大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教  
 研究者番号：90397969  
 (H20→H21)

(3) 連携研究者 ( )

研究者番号：