

機関番号：12602

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2009～2010

課題番号：21890075

研究課題名(和文) 関節形成不全におけるカテプシンKを介したOA発症および進行のメカニズム解明

研究課題名(英文) Mechanism elucidation of OA occurrence and advance mediating Cathepsin K in joint dysplasia

研究代表者

武居 真希 (TAKEI MAKI)

東京医科歯科大学・歯学部附属病院・医員

研究者番号：50547445

研究成果の概要(和文)：変形性関節症(OA)は様々な関節に発症し、膝関節におけるOAの原因として、形態異常、筋力低下が指摘されている。これらは顎関節領域におけるOAの病因とも大きく関与していると考えられるが、これまでに報告がない。そこで、本研究では顎関節形成不全を再現する動物モデル(ラット)を作製した後、過開口による非生理的負荷を加えた際の変化について比較検討することで、成長期における顎関節形成不全とOAとの関連を調べることを目的とした。3週齢雄性Wistar系ラットの両側咬筋を切断し(実験群)、未処置のラットを対照群とした。実験開始3,6週後に屠殺し、マイクロCTを用いた下顎頭の形態評価、Toluidine blue染色による組織学的評価を行った。その結果、実験群は対照群と比較して下顎頭形態は小さく、下顎頭軟骨下骨の骨密度が低いこと、軟骨の厚径が小さいことが認められた。咬筋切断により咀嚼筋力を低下させると顎関節の形成不全が生じることが明らかとなり、顎関節形成不全を確実に再現できるモデルの作製が可能となった。次に、同様の実験開始6週間後に1日3時間の過開口を5日間行い、屠殺した。未処置のラットの対照群、咬筋切断(+)群・過開口(-)、咬筋切断(-)・過開口(+)群、咬筋切断(+)・過開口(+)群の4群において、Hematoxylin Eosin染色による組織学的評価を行った。過開口を行った両群では、滑膜における血管拡張、炎症性細胞の浸潤、フィブリンの沈着が認められ、咬筋切断(+)・過開口(+)群において、より顕著な炎症所見が認められた。一方、過開口を行わなかった両群においては、炎症所見は認められなかった。以上より、成長期の咀嚼筋力低下によってもたらされた顎関節形成不全が、顎関節炎の発症、増悪化に関与することが示唆され、さらにそれに伴うOA発症に関与する可能性が考えられた。

研究成果の概要(英文)：Osteoarthritis (OA) occurs on various joints. It is known that causes of knee OA are deformity of the joints, muscular weakness, and so on. They might correlate with OA of the temporomandibular joint (TMJ), but there is no research about them. In this study, to investigate the relationship between TMJ dysplasia and OA during growth, we made the animal study model (rat) which can recreate TMJ dysplasia, and evaluated changes under nonphysiological load induced by jaw excess opening. 3-week-old male Wistar rats were used for this study. In the experimental group, the masseter muscles were bilaterally resected. After 3 and 6 weeks from the beginning of it, we sacrificed rats, made morphometric assessment of condyle with micro CT, and performed histomorphometry with toluidine blue staining. In the experimental group, we detected smaller condylar head, lower bone density of subchondral bone, and thinner condylar cartilage compared with the control group. So, we were able to make the TMJ dysplasia model. Next, 3-week-old male Wistar rats were classified into four groups. The first group served as control; and in the second group, jaw opening was forced for 5 days; for 3 hours per day, when the rats were 9 weeks old. In the third and fourth groups, the masseter muscles were bilaterally resected at 3 weeks of age, and the rats in the fourth group were additionally forced to open their jaw at 9 weeks of age. At the end of the experiment, all rats were sacrificed to evaluate histological differences in four groups. The jaw-opening rats revealed inflammatory changes including synovial hyperplasia, dilated vasculature, and fibrin deposits. Especially, the masseter-resection (+) jaw-opening (+) group showed more significant changes compared

with the masseter-resection (-) jaw-opening (+) group. While the groups with no jaw-opening showed noninflammatory changes. These results suggested that TMJ dysplasia caused by decreased masseter activity during growth might be correlated with onset and exacerbation of arthritis, and additionally OA following them.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	890,000	267,000	1,157,000
2010年度	740,000	222,000	962,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,630,000	489,000	2,119,000

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：咀嚼筋力低下、顎関節形成不全、マイクロCT、過開口、下顎頭軟骨下骨、下顎頭軟骨

1. 研究開始当初の背景

変形性関節症（OA）は様々な関節に発症し、膝関節におけるOAの原因として、形態異常、不安定性、筋力低下等が指摘されている。これらは顎関節領域におけるOAの病因とも大きく関与していると考えられる。また、近年、膝OAにおいて、軟骨基質の主要成分であるタイプIIコラーゲンを分解すると言われているカテプシンKの関与が報告されており、OAの増悪化に関わりが深いと考える。近年報告されたOAの発症および進行の機序へのカテプシンK関与については、膝関節や股関節においては報告されているものの、顎関節領域においては未だ報告が無い。

2. 研究の目的

成長期における顎関節領域に不安定性、形成不全（形態異常）を再現する動物モデル（ラット）を作製し、開口による非生理的負荷を加えた際のカテプシンKの発現を比較検討することで、OAの病態を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 顎関節形成不全モデルの作製と関節形成不全の評価

3週齢雄性Wistar系ラットの両側咬筋を切断し（実験群）、未処置のラットを対照群とした。実験開始3,6週後に屠殺し、マイクロCT（SMX-90CT）を用いて下顎頭の形態評価を行った。その後、脱灰、パラフィン切片を作製し、Toluidine blue染色による組織学的評価を行った。

検定はMann Whitney's U testを行った。

(2) 顎関節形成不全モデルに過開口による非生理的負荷を加えた際の組織学的評価

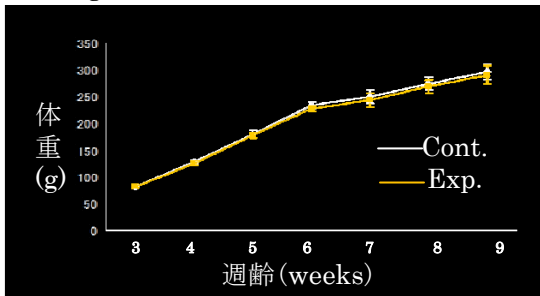
3週齢雄性Wistar系ラットの両側咬筋を切断し、実験開始6週間後に1日3時間の過開口を5日間行い、屠殺した。未処置のラットの対照群、咬筋切断(+)群・過開口(-)、咬筋切断(-)・過開口(+)群、咬筋切断(+)-過開口(+)群の4群において、Hematoxylin Eosin染色により、組織学的評価を行った。

4. 研究成果

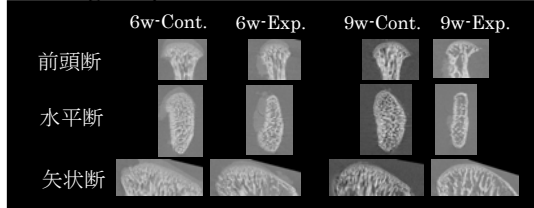
(1) 実験期間を通して、両群間の体重について有意な差は認められなかった。【Fig.1】9週齢の実験群において、下顎頭体積、下顎頭軟骨下骨の体積および表面積が対照群と比較して有意に小さな値を示した。6,9週齢の実験群において、下顎頭軟骨下骨の骨梁間隙が対照群と比較して有意に大きく、骨密度は有意に小さな値を示した。また、下顎頭軟骨の厚径が対照群と比較して有意に小さな値を示した。【Fig.2】【Fig.3】

以上より、咬筋切断により咀嚼筋力を低下させると顎関節の形成不全が生じることが明らかとなり、顎関節形成不全を確実に再現できるモデルの作製が可能となった。

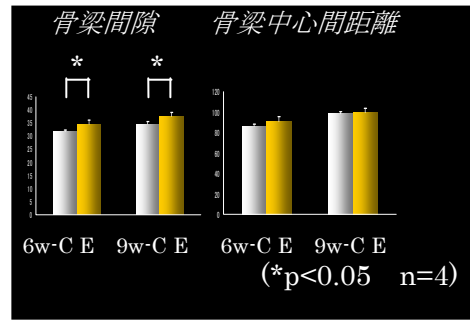
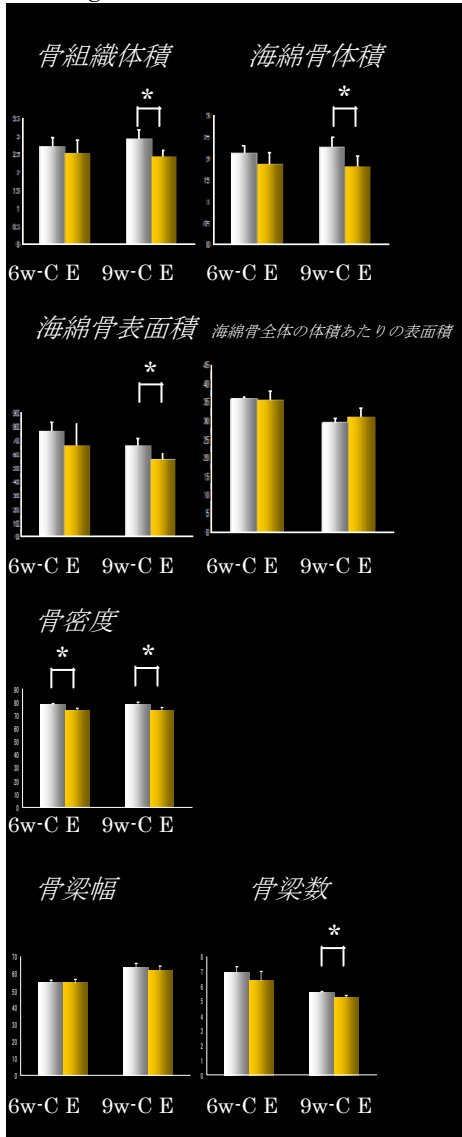
【Fig.1】 体重変化表



【Fig.2】 μ -CT 撮影像



【Fig.3】 解析結果



(2) 過開口を行った両群では、滑膜における血管拡張、炎症性細胞の浸潤、フィブリンの沈着が認められ、咬筋切断 (+)・過開口 (+) 群において、より顕著な炎症所見が認められた。一方、過開口を行わなかった両群においては、炎症所見は認められなかった。

以上より、成長期の咀嚼筋力低下によってもたらされた顎関節形成不全が、顎関節炎の発症、増悪化に関与することが示唆され、さらにそれに伴うOA発症に関与する可能性が考えられた。

今後、顎関節形成不全モデルに過開口による非生理的負荷を加えた際のカテプシン K、MMP-13 の発現を組織学的、生化学的に比較検討する予定である。

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 2 件)

- ① Maki Takei, Ikuo Yonemitsu, Ippei Watari
Influence of masseter muscle activity on the subchondral bone in the growing rat temporomandibular joint
The 42nd Annual Scientific Congress of Korean Association of Orthodontists
Page90-1. 2009.
- ② 武居真希・米満郁男・渡一平・小野卓史
成長期における咀嚼筋力低下がラット下顎頭軟骨下骨に及ぼす影響
第 69 回日本矯正歯科学会大会プログラム・抄録集 Page153. 2010

[学会発表] (計 2 件)

- ① Influence of masseter muscle activity on the subchondral bone in the growing rat temporomandibular joint
Maki Takei, Ikuo Yonemitsu, Ippei Watari
The 42nd Annual Scientific Congress of Korean Association of Orthodontists
2009/11/5-7
Korea (Daejeon)

- ② 成長期における咀嚼筋力低下がラット下顎頭軟骨下骨に及ぼす影響
武居真希・米満郁男・渡一平・小野卓史
第 69 回日本矯正歯科学会大会
2010/09/27～29
横浜（パシフィコ横浜）

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

武居 真希 (TAKEI MAKI)
東京医科歯科大学・歯学部附属病院・医員
研究者番号：50547445

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし