

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K17035

研究課題名（和文）加齢による変形性顎関節症を引き起こす細胞内輸送を制御するシグナル伝達経路の解明

研究課題名（英文）Analysis of Signaling Pathways Regulating Intracellular Transport in Age-Related Temporomandibular Joint Osteoarthritis

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） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：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。本研究では、加齢による下顎頭軟骨のプロテオグリカンの減少と相関しmTORシグナルが減衰し、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一次繊毛の発現が減少することを明らかにした。さらに、下顎頭軟骨においてmTORシグナルの阻害は一次繊毛の発現率が減少させ、加齢と類似した顎関節組織像を呈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mTORシグナルにより制御された一次繊毛の発現減少が関連していると考えられる。

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、高齢者に多くみられる。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一次繊毛の発現変化が相関することを示した。また、加齢とともにmTORシグナルの減衰が生じること、さらには顎関節においてmTORシグナルは一次繊毛を正に制御することを明らかにした。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となる研究である。

研究成果の概要（英文）：Although aging is one of the most common causes of TMJ-OA, the mechanism of age-related cartilage degradation is not clear. The elasticity of condylar cartilage deteriorates as proteoglycans decrease with age.

In this study, we found that mTOR signaling is attenuated in correlation with the decrease in proteoglycan production in condylar cartilage with age and that the expression of primary cilia is decreased. Furthermore, inhibition of mTOR signaling in condylar cartilage reduced the frequency of primary cilia, resulting in age-related deterioration of condylar cartilage.

Taken together, loss of primary cilia due to a decrease in mTOR signaling correlated with age-related deterioration of condylar cartilage.

研究分野：歯科補綴学

キーワード：顎関節 一次繊毛 軟骨細胞 mTOR 老化

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、一次繊毛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、一次繊毛を欠失した遺伝子改変マウスでは、老齢マウス下顎頭軟骨に類似し、細胞外基質の分泌が低下した表現型を示すこと¹⁾、さらには加齢と共に下顎頭軟骨で一次繊毛の発現率が減少することを見出した(図2)。mTOR シグナルはタンパク質合成や細胞成長に重要な役割を果たすキナーゼであり、これまで一次繊毛の発現を制御することが報告されている²⁾。

以上より、**①加齢による細胞外基質の産生能減少は一次繊毛の減少に起因し、②加齢における一次繊毛の減少にmTOR シグナルが関与している**との仮説のもと、下顎頭軟骨の加齢に伴う mTOR シグナルの変化と一次繊毛の発現率を組織学的に探索した。

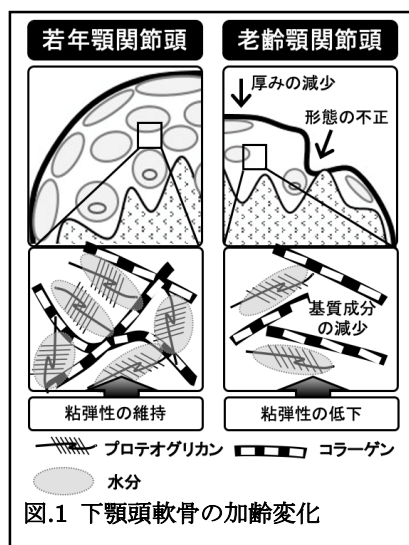


図.1 下顎頭軟骨の加齢変化

2. 研究の目的

本研究の目的は、下顎頭軟骨の加齢に伴う mTOR シグナルと一次繊毛の発現率の相関を明らかにし、下顎頭軟骨の加齢変化における mTOR シグナルと一次繊毛の役割を明らかにすることである。

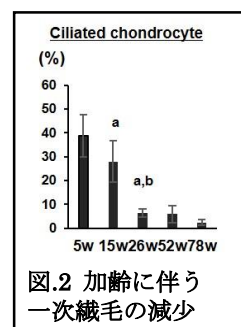


図.2 加齢に伴う一次繊毛の減少

3. 研究の方法

- (1) 加齢に伴う mTOR シグナルの変化の組織学的解析
- (2) mTOR シグナルの阻害剤、活性化剤を用いた軟骨細胞における一次繊毛発現率の細胞学的解析
- (3) mTOR シグナルの阻害剤を用いた下顎頭軟骨の形態変化と一次繊毛発現率の組織学的解析

4. 研究成果

- (1) 野生型マウス (C57BL/6J, 5, 15, 26, 52, 78 週齢) の下顎頭軟骨の脱灰凍結切片を作成し、抗 pS6 抗体を用いた免疫染色で mTOR の下流産物である pS6 を解析することで、加齢に伴う mTOR シグナルの変化を観察した。

5 週齢では下顎頭軟骨の全ての層で pS6 陽性軟骨細胞を観察出来たが、加齢とともに pS6 陽性軟骨細胞は減少し、78 週齢では pS6 陽性軟骨細胞はほとんど見られなくなった(図3)。以上より、下顎頭軟骨において一次繊毛の発現減少と mTOR シグナルの減衰は相関することが明らかとなった。

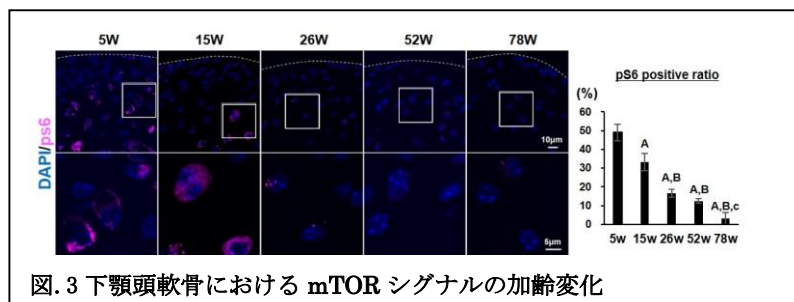


図.3 下顎頭軟骨における mTOR シグナルの加齢変化

- (2) mTOR シグナルが一次繊毛の維持にどのように影響するのかを明らかにするために、マウス軟骨前駆細胞 ATDC5 に mTOR シグナルの活性化剤 MHY1485、または阻害剤 Rapamycin を投与し、抗 acetylated Tubulin 抗体、抗 γ Tubulin 抗体、抗 pS6 抗体を用いて一次繊毛の発現率の解析を行った。

mTOR シグナル活性化剤 MHY1485 を投与した軟骨前駆細胞では、pS6 の発現が上昇し一次繊毛の発現率が 9.1% から 73.9%へと大きく上昇した。一方、mTOR シグナル阻害剤 Rapamycin を投与した軟骨前駆細胞では、pS6 陽性細胞はほとんど消失し一次繊毛

の発現率は 67.3% から 37.1%へと有意に低下した(図 4)。以上より、mTOR シグナルは軟骨細胞において、一次繊毛の発現を正に制御することが明らかとなった。

- (3) mTOR シグナル阻害剤 Rapamycin をマウスに 11 週間腹腔内投与し、mTOR シグナルの阻害が下顎頭軟骨の一次繊毛の発現率と形態に与える影響を組織学的に解析した。Rapamycin を長期投与したマウスより採取した下顎頭軟骨の脱灰凍結切片を作成し、抗 acetylated Tubulin 抗体、抗 γ Tubulin 抗体、抗 pS6 抗体を用いた免疫染色を行った。

Rapamycin 投与マウスの顎関節では pS6 の発現減少と共に一次繊毛の発現率が有意に減少した(図 5)。

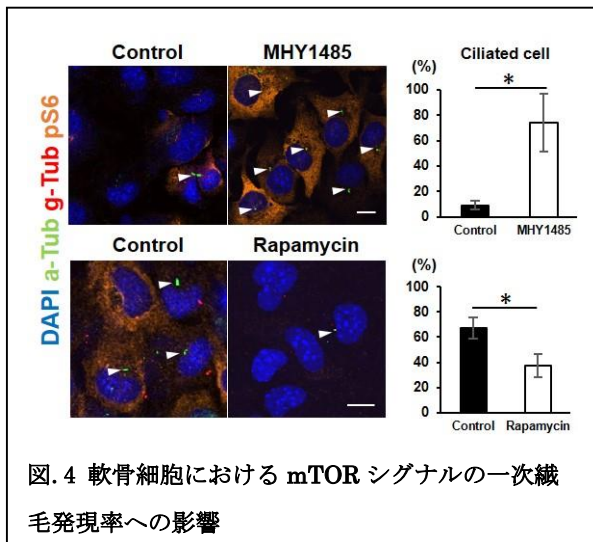


図 4 軟骨細胞における mTOR シグナルの一次繊毛発現率への影響

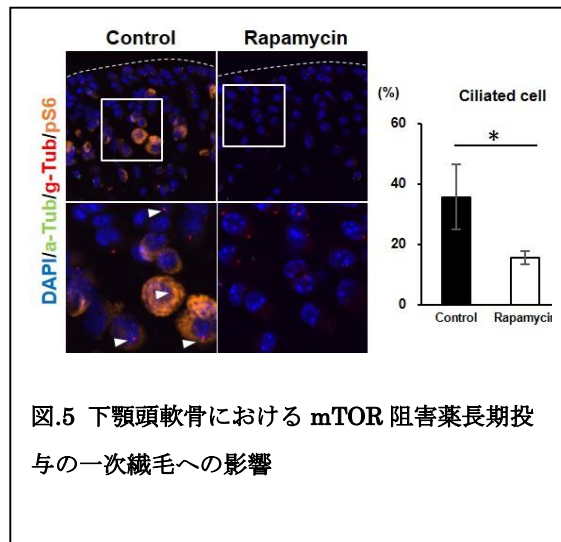


図 5 下顎頭軟骨における mTOR 阻害薬長期投与の一次繊毛への影響

さらに、Safranin-O 染色を行い軟骨細胞外基質プロテオグリカンの産生を組織学的に解析した。Rapamycin を長期投与したマウスの下顎頭軟骨では、軟骨組織の菲薄化、軟骨細胞サイズの減少に加え、プロテオグリカンの産生が減少し、高齢マウスの顎関節組織像と類似した組織像が観察された(図 6)。

以上の結果より、下顎頭軟骨において mTOR シグナルは一次繊毛の発現を正に制御しており、mTOR シグナルの低下による一次繊毛の喪失が、加齢に伴う下顎頭軟骨の劣化と相関していることを明らかにした。

これらの結果は、下顎頭軟骨の恒常性維持に関する新たな知見であり、加齢に伴う変形性顎関節症の病因の解明に大きく寄与するものである。

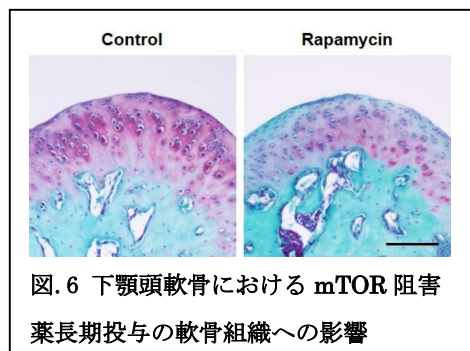


図 6 下顎頭軟骨における mTOR 阻害薬長期投与の軟骨組織への影響

<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.
2. Lai Y, Jiang Y. Reciprocal regulation between primary cilia and mTORC1. *Genes (Basel).* 2020;11:711.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yamaguchi Hiroyuki, Kitami Megumi, Uchima Koecklin Karin H., He Li, Wang Jianbo, Lagor William R., Perrien Daniel S., Komatsu Yoshihiro	4. 巻 482
2. 論文標題 Temporospatial regulation of intraflagellar transport is required for the endochondral ossification in mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 91 ~ 100
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ydbio.2021.12.004	査読の有無 有
オープンアクセス 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 該当する

1. 著者名 Thant Lay, Kaku Masaru, Kakiyama Yoshito, Mizukoshi Masaru, Kitami Megumi, Arai Moe, Kitami Kohei, Kobayashi Daiki, Yoshida Yutaka, Maeda Takeyasu, Saito Isao, Uoshima Katsumi, Saeki Makio	4. 巻 13
2. 論文標題 Extracellular Matrix-Oriented Proteomic Analysis of Periodontal Ligament Under Mechanical Stress	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Physiology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fphys.2022.899699	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 Thant Lay, Kakiyama Yoshito, Kaku Masaru, Kitami Megumi, Kitami Kohei, Mizukoshi Masaru, Maeda Takeyasu, Saito Isao, Saeki Makio	4. 巻 624
2. 論文標題 Involvement of Rab11 in osteoblastic differentiation: Its up-regulation during the differentiation and by tensile stress	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 16 ~ 22
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2022.07.061	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 Asami Eri, Kitami Megumi, Ida Takako, Kobayashi Tadaharu, Saeki Makio	4. 巻 -
2. 論文標題 Anti-inflammatory activity of 2-methoxy-4-vinylphenol involves inhibition of lipopolysaccharide-induced inducible nitric oxidase synthase by heme oxygenase-1	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Immunopharmacology and Immunotoxicology	6. 最初と最後の頁 1 ~ 8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/08923973.2023.2197141	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 Kitami Megumi, Kaku Masaru, Thant Lay, Maeda Takeyasu	4. 巻 -
2. 論文標題 A loss of primary cilia by a reduction in mTOR signaling correlates with age-related deteriorations in condylar cartilage	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 GeroScience	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11357-024-01143-x	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

〔学会発表〕 計1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 北見恩美、加来賢
2. 発表標題 プライマリーシリアを介した下顎頭軟骨老化メカニズムの探索
3. 学会等名 第64回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (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