

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 19 日現在

機関番号：33303

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2013

課題番号：22592235

研究課題名(和文)性ホルモン・環境ホルモンの影響による変形性顎関節症の病態解明

研究課題名(英文)Analysis of the temporomandibular joint influenced by Bisphenol A

研究代表者

金山 景錫(KANEYAMA, Keiseki)

金沢医科大学・医学部・講師

研究者番号：50329380

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：環境ホルモン：ビスフェノールA(BPA)はエストロゲン関連受容体(ERR)に非常に強く結合し、その作用を発現する。マウス顎関節におけるERRの発現について調べた。【方法】14、16dpcのICRマウスを屠殺し、8μm厚のパラフィン切片を作製。抗マウスERR抗体の免疫染色でERRの発現を調べた。【結果・考察】発現は14dpcでは下顎頭原基となる未分化間葉細胞の集簇と下方の軟骨内骨化が生じている部位、16dpcでは関節円板原基にも発現をみた。以上より胎生期でのERRの発現はBPAの影響を受ける環境にある。

研究成果の概要(英文)：The present study was conducted to investigate the expression of Estrogen related receptor (ERRr) in the temporomandibular joint (TMJ). Fetal mice at 14 and 16 dpc were fixed in a formalin and were embedded in paraffin at 8 μm. The TMJ region was examined for the presence of ERRr stained cells. The expression of ERRr of the TMJ region was observed in the nuclei of the mandibular

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：顎関節 環境ホルモン ビスフェノールA エストロゲン関連受容体 下顎頭

1. 研究開始当初の背景

近年、高齢化社会への移行につれて特に女性を中心とした変形性関節症や骨粗鬆症などの急増が社会的問題になっている。変形性関節症に属す変形性顎関節症はう蝕・歯周病につぐ歯科三大疾患の一つであり、その発症頻度が圧倒的に女性に多く、臨床的に関節痛、口が開かない、痛みのために食事がとりづらいなど日常生活に多大な影響を及ぼすことから、この疾患の発症機序と病態機構の解明が社会的に強く要望されている。変形性関節症の特徴として女性ホルモンであるエストロゲンが破骨細胞に影響を及ぼし、骨吸収を促進することで病態を形成するといわれているが詳細は不明である。特に近年、破骨細胞の分化因子・抑制因子が相次いで発見され、骨吸収に対して破骨細胞の役割に関する基礎的な研究が世界的にも非常に注目されている。類似の患者背景を持つ変形性顎関節症でも破骨細胞の分化因子・抑制因子が発現していることを我々は科研費(金山研究業績:平成13-15 基盤研究(C)・平成16-18 年度若手研究(B))の成果として世界に先駆け報告し、その病態機構の糸口をつかむに至った。一方、我々の生活の中に身近に存在する環境ホルモンの一つであるビスフェノール A はエストロゲン類似作用をもち、内分泌攪乱物質として動物の胎児や産仔に対し、これまでの毒性試験では有害な影響が認められなかった量より非常に極めて低用量の投与により有害な影響が認められることが近年新たに報告された。これによりヒトに対しても悪影響があるのではないかという懸念のために日本のみならず欧米においても再評価が早急に行われている。我々の施設においても科研費(金山研究業績:19-21 年度基盤研究(C))の研究の一環としてすでに「ビスフェノール A を妊娠マウス投与して顎関節への影響を調べた結果、出産仔マウ

スにおける顎関節の発育遅延を認めた」ことから、ビスフェノール A のもつエストロゲン類似作用を介して顎関節異常を起こす事を突きとめた。これらから破骨細胞の分化・抑制に対してエストロゲンのみならず環境ホルモンの影響や代謝経路の解明は変形性顎関節症の発症機序や病態の解明につながる事が考えられる。

2. 研究の目的

本研究では女性ホルモンであるエストロゲンやその類似作用を持ち社会的問題となっている環境ホルモン(ビスフェノール A)が骨の吸収に関与する破骨細胞にどのように影響するかを解明することで女性を中心とした歯科三大疾患の一つである変形性顎関節症の発症機序と病態機構を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

臨床的基礎的研究としては変形性顎関節症患者の関節液・関節組織検体を用い、基礎的研究としては現在継続中のビスフェノール A 投与による仔マウス変形性顎関節症モデルを用い、破骨細胞の分化・抑制に関わる因子やエストロゲンなどを生化学的・免疫組織学的手法、遺伝子学的手法を用いて検出・同定し、臨床所見(骨変形、関節疼痛、画像所見など)との関連を調べて変形性顎関節症の発症機序や病態機構を明らかにする。

4. 研究成果

BPA 投与により下顎頭の発育低下をみたことから、マウスでは下顎頭の成長発育が胎生期においてすでに性ホルモンの影響を受けていることが示唆された。ICR 雌性妊娠マウスへ 12 - 16dpc(膣栓+: 0dpc)に連日 BPA を経口投与(BPA 群:濃度 0.2、2、20 μ g/kg。母獣は各 3 腹)、コントロール(CO

群)としてコーン油(2.5ml/kg)も同様に投与した。出生1日目の新生児マウス各10-12匹を屠殺し、パラフィン包埋後にHE染色した。下顎骨(頭)をMesenchymal zone(M)、Pre-hypertrophic zone(PH)、Hypertrophic zone(H)の3層に分け、各層の細胞数と体積を3次元的に測定した。また免疫染色でエストロゲンレセプター(ER)- α の局在を調べた。BPA群で下顎頭の平均細胞数・体積が小さく、未成熟細胞の割合(PH/H比)が増加し、ER- α はPH・H層の軟骨細胞の核内に局在していた。以上からBPA投与によりPH・H層でのERを介して軟骨基質形成抑制的に下顎頭の発育低下を招くことが示唆された。

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5件)

K.Kaneyama, N.Segami, R.Nishiura, H.Yoshimura: Internal derangement of the temporomandibular joint with mouth-closing disturbance caused by a thickness of retrodiscal tissue: A case report. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, 査読有, 69:1052-1055, 2011.

H.Yoshimura, M.Honjo, T.Sugai, M.Kawabe, K.Kaneyama, N.Segami, N.Kato.: Influences of audio-visual environments on feelings of deliciousness during having sweet foods: an electroencephalogram frequency analysis study. *Nutr Neurosci.*, 査読有, 14(5): 210-215, 2011.

H.Yoshimura, M.Honjo, T.Sugai, K.Kaneyama, N.Segami, N.Kato:

Correlation between stimulation strength and onset time of signal traveling within the neocortical neural circuits under caffeine application. *Neurosci Res.*, 査読有, 70(4):370-375, 2011.

K.Kaneyama, N.Segami, H.Yoshimura, M.Honjo, N.Demura: Increased levels of soluble cytokine receptors in the synovial fluid of temporomandibular joint disorders in relation to joint effusion on magnetic resonance images. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, 査読有, 68:1088-1093, 2010.

H.Yoshimura, T.Sugai, M.Honjo, K.Kaneyama, N.Segami, N.Kato: Application of caffeine reveals input frequency-dependent determination of signal-traveling routes between primary and secondary visual cortices in rats. *Neurosci Res.*, 査読有, 66(1): 30-36, 2010.

[学会発表](計12件)

金山景錫, 八田稔久, 島村英理子, 島田ひろき, 瀬上夏樹: マウス顎関節発生におけるエストロゲン関連受容体の発現について, 第53回日本先天異常学会学術集会, (大阪, '13.07.21).

金山景錫, 八田稔久, 山本奈央, 瀬上夏樹: 顎関節症に女性ホルモンは関与するか - エストロゲンレセプターの免疫組織学的検討 -, 第67回日本口腔科学会学術集会, (栃木, '13.05.23).

金山景錫, 山本奈央, 富山高史, 瀬上夏樹: 他関節に続発して生じた顎関節ピロリ

ン酸カルシウム(CPPD)結晶沈着症の 1 例,
第 55 回日本口腔科学会中部地方部会,
(名古屋, '12.12.14).

瀬上夏樹, 金山景錫, 富山高史: 顎関節
脱臼手術 62 例の検討, 第 55 回日本口腔科
学会中部地方部会, (名古屋, '12.12.14).

金山景錫, 瀬上夏樹: われわれが行って
いる IVSRO (下顎枝垂直矢状分割術), 第
37 回日本口腔外科学会中部地方会, (金沢,
'12.06.02).

瀬上夏樹, 金山景錫: 局麻鎮静下の陳旧
性顎関節脱臼手術(関節節節削除+高位下顎
頭切除+円板切除), 第 37 回日本口腔外科
学会中部地方会, (金沢, '12.06.02).

山本奈央, 瀬上夏樹, 金山景錫, 川邊
真道: 兄弟に発生した舌上皮内癌の 2 例,
日本味と匂学会 第 45 回大会, (金沢,
'11.10.05).

千葉祐胤, 瀬上夏樹, 金山景錫, 川邊真
道: 顎関節症手術における筋突起咬筋処理
の適応について 咀嚼筋・腱膜過形成の合
併例は存在するか? -, 第 54 回日本口腔科
学会中部地方部会, (名古屋, '11.10.1).

金山景錫, 八田稔久, 吉村 弘, 青木秀
哲, 小野 徹, 瀬上夏樹: ビスフェノール
A のマウス下顎頭に及ぼす影響-下顎頭軟
骨の層別での検討-, 第 65 回日本口腔科学
会学術集会, (東京, '11.04.21).

齋藤多紀, 瀬上夏樹, 金山景錫: 大胸筋
皮弁による口腔癌再建症例の検討, 第 53
回日本口腔科学会中部地方部会, (富山,
'10.10.2).

金山景錫, 八田稔久, 島村英理子, 島田
ひろき, 瀬上夏樹: ビスフェノール A のマ
ウス下顎頭に及ぼす影響, 第 50 回日本先
天異常学会学術集会,
(兵庫, '10.07.08).

金山景錫, 八田稔久, 吉村 弘, 青木秀
哲, 小野 徹, 瀬上夏樹: 女性ホルモン様
物質(ビスフェノール A)の胎生期暴露が
マウス下顎頭に及ぼす影響, 第 64 回日本
口腔科学会学術集会, (札幌, '10.06.24).

6 . 研究組織

(1)研究代表者

金山 景錫 (KANEYAMA,Keiseki)
金沢医科大学・医学部・講師
研究者番号: 50329380

(2)研究分担者

八田 稔久 (HATTA,Toshihisa)
金沢医科大学・医学部・教授
研究者番号: 20238025

瀬上 夏樹 (SEGAMI,Natsuki)
金沢医科大学・医学部・教授
研究者番号: 40148721