

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 6 日現在

機関番号：24701

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592998

研究課題名(和文)顎関節内障におけるテネイシンCの働き

研究課題名(英文)Role of Tenascin C in internal derangement of temporomandibular joint

研究代表者

東條 格 (Tojyo, Itaru)

和歌山県立医科大学・医学部・講師

研究者番号：70405439

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：顎関節内障で生じる顎関節の線維性癒着にテネイシンC (TNC)がどのように関与しているかを、野生型(WT)マウスとTNCノックアウト(TNCKO)マウスに過開口運動を加え、顎関節線維性癒着モデルを作製し、細胞接着に関係するフィブロネクチン(FN)の発現と筋線維芽細胞の存在を示す α -smooth muscle actin(α -SMA)の発現を調べることによって検討した。その結果、TNCKOマウスではWTより関節円板の線維性癒着が遅れ、FNと α -SMAのタンパクの発現は、TNCKOマウスではWTより少なかった。ゆえにTNCは顎関節の線維性癒着の促進において重要な役割を果たしている事が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Tenascin-C (TNC) is expressed in inflamed synovial membranes and deformed discs of temporomandibular joint (TMJ) disorder. However, the role of TNC in TMJ is not fully known. In this study, the role of TNC in fibrous adhesion formation of TMJ was examined using TNC knockout (TNCKO) mice. Hypermobility was produced by excessive mouth opening method on the TMJ of both wild-type (WT) and TNCKO mice. TMJ wound healing was compared histologically, and the expression of TNC, fibronectin (FN), and α -smooth muscle actin (α -SMA) in the wounded TMJ was examined by immunohistochemical and immunoblot analyses. Based on histologic analysis, fibrous adhesion formation in TNCKO mice occurred later than in WT mice. Although FN and α -SMA expression in the TMJ of TNCKO and WT mice was up-regulated after excessive mouth opening, FN and α -SMA protein levels were higher in WT mice at the same time points. In the wounded TMJ, TNC has an important role in fibrous adhesion formation in the TMJ.

研究分野：口腔外科学

キーワード：顎関節 線維性癒着 テネイシンC フィブロネクチン α -smooth muscle actin 筋線維芽細胞

1. 研究開始当初の背景

顎関節内障には、さまざまな病態があり、不定期な痛みのないクリックから、下顎頭と側頭窩の吸収を伴う退行性変化までがある。関節円板の線維性癒着は、退行性変化の一つであり、痛み、過剰運動、そして、円板機能の機械的制限による円板機能障害をもたらす。顎関節内障の進行をもたらす。関節円板の癒着の病理と病因は完全には解明されていない。

テネイシン C (TNC) は、ジスルフィド結合サブユニット 6 量体で、分子量は、120kDa から 300 kDa である。免疫染色される TNC は、健康な滑膜と円板において低い発現レベルであるが、一方、炎症のある滑膜と変形した関節円板では、TNC は強く発現する。さらに、TNC の欠質は、マウスにおける実験的肝炎での線維化が抑制されると報告されている。つまり、TNC は線維化に必要な細胞外マトリックスとして考えられている。

フィブロネクチン (FN) は、顎関節の関節組織を含むさまざまな組織における細胞外マトリックスの中で、大きな接着糖タンパクである。FN は主に、カルボキシル基のそばの 2 つのジスルフィドにより結合するヘテロダイマーで構成されている。FN は、コラーゲン、ヘパリン、フィブリンなど多くの細胞外マトリックスと結合するサイトを含む多くのドメインを持つ多価の分子である。FN はそのマルチドメインの構造により細胞外マトリックスの集合において重要な役割を果たすと考えられている。FN はフィブリン凝塊形成においての環境だけでなく、関節炎が進行した状態で、関節滑液と関節組織において FN の濃度が関節炎組織において増加している。

筋線維芽細胞は、肝炎、角膜の線維化、肺線維症などの線維化病変に発現する細胞であり、 α -smooth muscle actin (α -SMA) をもつ細胞である。すなわち、筋線維芽細胞は、組織が線維化を引き起こす病態に生じる細胞であると考えられている。

強制開口プロトコールは、顎関節における関節の線維性癒着において効果的であることが示されてきた。なぜなら、関節の外科的手技を用いずに関節へ荷重をかけることができ、*in vivo* で顎関節の線維性癒着を引き起こすことができるからである。顎関節の線維性癒着における TNC の役割はまだ知られていない。このことを解明するために、過開口運動を行ったあとの TNC ノックアウトマウスと野生型 (WT) マウスにおける組織治癒を比較した。TNC ノックアウトマウスの表現型は異常を示さないが、外的刺激に対する反応は、WT マウスと異なるかもしれない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、顎関節の組織治癒における TNC の役割を評価することである。われわれは、TNC ノックアウトマウスと WT マウス

の顎関節の形態学的変化を調べ、創傷治癒における重要な細胞外マトリックスである FN の発現と、筋線維芽細胞の発現を示す α -SMA の発現を調べた。

3. 研究の方法

マウスに過開口運動を行うことにより、顎関節の線維性癒着モデルを作成した。この顎関節線維性癒着モデルを用いて、WT マウスと TNC ノックアウトマウスとの形態的变化と FN と α -SMA のタンパク発現の比較検討を行った。手技は、HE 標本による、顎関節組織の形態的観察と、免疫組織化学染色による FN と α -SMA の発現時期と部位の観察である。さらに、ウエスタンブロッティングにより FN と α -SMA のタンパク発現量を比較した。

4. 研究成果

HE 標本の形態の評価をおこなったところ、過開口後 7 日目に WT マウスにおいて線維性癒着を認められたが、TNC ノックアウトマウスでは線維性癒着は認めなかった。過開口後 20 日目では、TNC ノックアウトマウスにおいても線維性癒着を認めるようになったが、WT マウスよりも癒着の範囲は狭く線維性癒着が遅れる傾向にあった。免疫組織化学染色では、FN と α -SMA の発現部位は、WT マウスと TNC ノックアウトマウス両方の関節窩、関節円板、下顎頭であった。FN と α -SMA の発現の強さは、TNC ノックアウトマウスにおいて WT マウスに比べて弱かった。ウエスタンブロッティングによりタンパクの発現を確認したところ、TNC ノックアウトマウスにおいて FN と α -SMA の発現量が WT マウスに比べて少なかった。

考察:TNC は糖タンパク分子の構造を持つ細胞外マトリックスで、TNC は形態形成、創傷治癒などの組織再構築過程において重要な役割を果たす細胞外マトリックスと考えられている。TNC ノックアウトマウスでは線維性癒着の時期が WT マウスよりも遅れる傾向があったことから、TNC は顎関節組織の線維化に関係する因子であると考えられた。また、FN の発現は、TNC ノックアウトマウスにおいて WT マウスよりも少なかった。同様に、筋線維芽細胞は線維化の原因となるコラーゲンを産生しているが、TNC ノックアウトマウスにおいて筋線維芽細胞の発現は WT マウスと比べて少なかった。TNC は FN と筋線維芽細胞の発現を抑制し、顎関節の線維性癒着に関係する因子であることが示唆された。

< 引用文献 >

- Ronald M, Kaminishi RM, Davis CL. Temporomandibular joint arthroscopic observation of superior space adhesions. Oral Maxillofac Surg Clin North Am.1989;1:103-9.
Kurita K, Bronstein SL, Westesson PL,

Sternby NH. Arthroscopic diagnosis of perforation and adhesions of the temporomandibular joint: Correlation with postmortem morphology. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1989;68:130-4.

Murakami K, Segami N, Moriya Y, Iizuka T. Correlation between pain and dysfunction and intra-articular adhesions in patients with internal derangement of the temporomandibular joint. J Oral Maxillofac Surg 1992;50:705-8.

Smartt JM Jr, Low DW, Bartlett SP. The pediatric mandible: I. A primer on growth and development. Plast Reconstr Surg 2005;116:14-23e.

Tojyo I, Yamaguti A, Nitta T, Yoshida H, Fujita S, Yoshida T. Effect of hypoxia and interleukin-1 β on expression of tenascin-C in temporomandibular joint. Oral Diseases 2008;14:45-50.

Kiga N, Tojyo I, Matsumoto T, Hiraishi Y, Shinohara Y, Makino S, et al. Expression of lumican and fibromodulin following interleukin-1 beta stimulation of disc cells of the human temporomandibular joint. Eur J Histochem 2011;55:e11.

Saga Y, Yagi T, Ikawa Y, Sakakura T, Aizawa S. Mice develop normally without tenascin. Genes Dev 1992;6:1821-31.

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7件)

Y. Shinohara, K. Okamoto, Y. Goh, N. Kiga, I. Tojyo, S. Fujita. Inhibition of fibrous adhesion formation in the temporomandibular joint of tenascin-C knockout mice. Eur J Histochem. 査読有 58(4), 263-270, 2014

Shigeyuki Fujita, Itaru Tojyo, Masai Yamada, Yoshihiko Goh, Takashi Matsumoto, Norifumi Kiga. Outcome Following Lingual Nerve Repair With Vein Graft Cuff: A Preliminary Report. J Oral Maxillofac Surg. 査読有 72(7) 1433.e1-1433.e7, 2014

小松誉和、和田 健、東條 格、坂井美里、藤田茂之：巨大な舌潰瘍を示した MTX 関連リンパ増殖性疾患の1例。和歌山医学 査読有 64 巻 4 号：117-120, 2013.

東條 格、平石幸裕、中谷 現、和田 健、藤田茂之：下顎歯肉癌の治療後に尋常性天疱瘡が発症し SCC 抗原高値を示した1例。日口診誌 査読有 25(2) 157-161, 2012.

東條 格、木賀紀文、山田真沙偉、岡本健二郎、和田 健、藤田茂之：頬骨上顎骨から眼窩内に及ぶ骨折の治療に骨補填材とバルーンカテーテルを併用した1例。日口外傷誌 査読有 11(1)：26-30, 2012.

東條 格、根来健二、山田真沙偉、郷与志彦、和田 健、藤田茂之：重篤な外傷性顔面神経麻痺に対して動的顔面神経再建術を施行した1例。日口外誌 査読有 58(7)：443-447, 2012.

総説

東條 格、佐多孝文：診断力てすと 左側口蓋の無痛性の腫脹。DENTAL DIAMOND Vol.37 No.546: 143-144, DEC. 2012.

〔学会発表〕(計13件)

岡本 健二郎、木賀 紀文、榎野 秀一、篠原 裕志、山田 真沙偉、郷 与志彦、東條 格、藤田 茂之：顎関節部滑膜細胞における DHEA の lumican、fibromodulin に対する効果。日本顎関節学会総会・学術大会 2014.07 福岡市

森 恵一、根来健二、新谷ゆかり、溝端直樹、伊藤将吾、高山三郎、森さゆ里、藤田茂之：当院における顎関節症患者の臨床統計的検討。第26回日本口腔科学会近畿地方部会 2014.12 京都市

篠原裕志、東條 格、木賀 紀文、藤田茂之：テネイシン C ノックアウトマウスにおける顎関節線維性癒着の減少 第59回日本口腔外科学会総会学術大会 2014.10 千葉市

岡本健二郎、榎野秀一、東條 格、郷与志彦、木賀紀文、篠原裕志、山田真沙偉、藤田茂之：顎関節症滑膜線維芽様細胞における DHEA の効果 第82回和歌山医学会総会 2014.7 和歌山市

篠原裕志、東條 格、木賀紀文、郷与志彦、榎野秀一、山田真沙偉、岡本健二郎、藤田茂之：テネイシン C ノックアウトマウスにおける顎関節線維性癒着の減少 第82回和歌山医学会総会 2014.7 和歌山市

溝端 直樹、東條 格、木賀 紀文、山田真沙偉、岡本 健二郎、伊藤 将吾、高山三郎、森 さゆ里、藤田 茂之：顎関節症新

外来患者の臨床統計学的検討. 和歌山医学会総会 2014.7 和歌山市

篠原裕志, 岡本健二郎, 郷 与志彦, 木賀紀文, 東條 格, 藤田茂之: テネイン C ノックアウトマウスにおける顎関節線維性癒着の減少 第 45 回日本結合組織学会学術大会・マトリックス研究会大会合同学術集会 2013. 6 和歌山市

篠原裕志, 松本隆司, 東條 格, 藤田茂之: テネイン C ノックアウトマウスにおける過開口後の顎関節の変化 第 57 回日本口腔外科学会総会 2012.10. 横浜市

Tojyo I, Shinohara Y, Matsumoto T, Kiga N, Fujita S. Expression of Chondrogenetic Factors in Synovial Chondromatosis of the Temporomandibular Joint. TMJ Bioengineering Conference. 2012. 9. Pittsburgh, PA, USA.

Matsumoto T, Tojyo I, Kiga N, Fujita S. Expression of ADAMTS-4 in Deformed Human Temporomandibular Joint Discs. TMJ Bioengineering Conference. 2012. 9. Pittsburgh, PA, USA.

Fujita S, Tojyo I, Kiga N, Matsumoto T. Development of Superselective TMJ Arthroscopic Surgery: The Combination of TMJ Arthroscopic Surgery using Double Puncture Technique and Histopathology Information of Surgical Specimen. TMJ Bioengineering Conference. 2012. 9. Pittsburgh, PA, USA.

篠原裕志, 東條 格, 郷 与志彦, 岡本健二郎, 藤田茂之: テネイン C ノックアウトマウスにおける過開口運動後の組織学的変化 第 80 回和歌山医学会総会 2012.7. 和歌山市

東條 格: 顎関節鏡の可動型デバイスの開発. 第 4 回次世代医療システム産業化フォーラム 2012 大阪商工会議所 2012.12.12, 大阪市.

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

該当なし。

6 . 研究組織

(1)研究代表者

東條 格 (TOJYO ITARU)

和歌山県立医科大学 医学部 講師

研究者番号 : 70405439

(2)研究分担者

藤田 茂之 (FUJITA SHIGEYUKI)

和歌山県立医科大学 医学部 教授

研究者番号 : 50228996

(3)連携研究者

該当なし。