

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 14 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：24592999

研究課題名(和文)顎関節内障における性ホルモンの影響

研究課題名(英文)Effect of sex hormone in interderangement of the temporomandibular joint

研究代表者

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

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)：我々は、ヒト顎関節滑膜細胞を用いて、DHEAがSLRPsのLumican、Fibromodulinにどのような作用を及ぼしているかを検討した。結果はIL-1beta投与下でDHEAは、FibromodulinのmRNAの発現を有意に増加させた。また、蛍光免疫学的分析で、ヒト顎関節滑膜細胞にIL-1beta単独、DHEA + IL-1beta、DHEA単独で作用させた群らは、IL-1beta、DHEA両者を作用させない群と比べてFibromodulinの発現が増加した。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to investigate the effect of DHEA, a sex hormone, on the expression of lumican and fibromodulin in human temporomandibular specimens and in cultured human TMJ fibroblast-like synovial cells in the presence or absence of the pro-inflammatory cytokine interleukin-1beta (IL-1beta). DHEA plus IL-1beta induced a significant increase in fibromodulin but not lumican mRNA, compared to DHEA alone, IL-1beta alone and absence of DHEA and IL-1beta. In immunofluorescent staining, weaker fibromodulin staining of FLS cells was observed in cells cultured in the absence of both DHEA and IL-1beta compared to fibromodulin staining of cells cultured with DHEA alone, with DHEA plus IL-1beta, or with IL-1beta alone.

研究分野：口腔顎顔面外科学

キーワード：顎関節 DHEA SLRPs lumican fibromodulin

1. 研究開始当初の背景

顎関節症とは、疼痛、運動障害など様々な症状を特長とする疾患である。臨床統計上は女性に4-9倍多くみられ、その好発年齢は三十代前後もしくは、50歳代にピークを迎える二峰性があるとされている。

我々の研究室では、顎関節滑膜、関節円板組織の炎症性の変化や低酸素状態における効果について研究を続けてきた。そのことで、病態は徐々に明らかになってきたが、成因は未だ不明なままである。顎関節内症の発症には、その他多くの疾患と同じように、身体的、精神的ストレスが複合してかかわる多因子病因論が広く知られている。その解明には、前述したように、男女差を考慮に入れる必要があると考えている。

そのような観点から、最近の報告では、女性ホルモンであるエストロゲンの顎関節への影響を検証する報告が近年少しずつなされている。すでに、前立腺の治療にあるように、女性ホルモンであるエストロゲンによって、男性ホルモンであるテストステロンが分泌抑制されることが知られている。乳癌においては、閉経後アロマターゼによりテストステロンからエストロゲンが作られるという両者の相互関係が明らかにされ、乳癌治療にも広くホルモン療法が実施されている。また、DHEAは、目的組織周辺にて、テストステロン、エストロゲンと変換されるもしくは、直接作用を及ぼすことが知られている。以上のことから、性ホルモンの関係は相互作用によって、成り立っており、また、それぞれの働きを明確にすることが、顎関節の病態を解明する足掛かりになると考える。そして、顎関節の炎症に対する、エストロゲンの抗炎症作用や免疫の活性、疼痛への効果、そして、心理学的効果が報告されてきている。

我々の研究室では、エストロゲンのみならず、テストステロンやDHEAの働きが、性差や二峰性の解明に、大きくかかわっていると考えている。そこで、未だ解明されていない顎関節部での性ホルモン(テストステロン、エストロゲン、デヒドロエピアンドロステロ)の働きを検証する必要があると考えた。

2. 研究の目的

顎関節滑膜におけるdehydroepiandrosterone(DHEA)が、細胞外マトリクス(ルミカン、ファイロモジュリン)の発現どのような影響を与えるか、また滑膜組織の肥厚や癒着のメカニズムを解析することが目的である。

3. 研究の方法

1) ヒト顎関節滑膜組織を用いて免疫組織化学的染色を行った。

ヒトの滑膜組織は健常者の顎関節滑膜組織、また変形性顎関節症患者の滑膜組織においてそれぞれ、ルミカン、フィブロモジュリンの発現を比較検討した。

2) ヒト顎関節滑膜細胞を用いて real time PCR を行った。

ヒトの顎関節滑膜細胞を通常酸素下で培養、炎症性サイトカイン IL-1 及び DHEA を添加、3 時間、6 時間、12 時間、24 時間後に mRNA を抽出、cDNA を合成し real time PCR にて、ルミカン、ファイロモジュリンの mRNA の発現量を評価した。

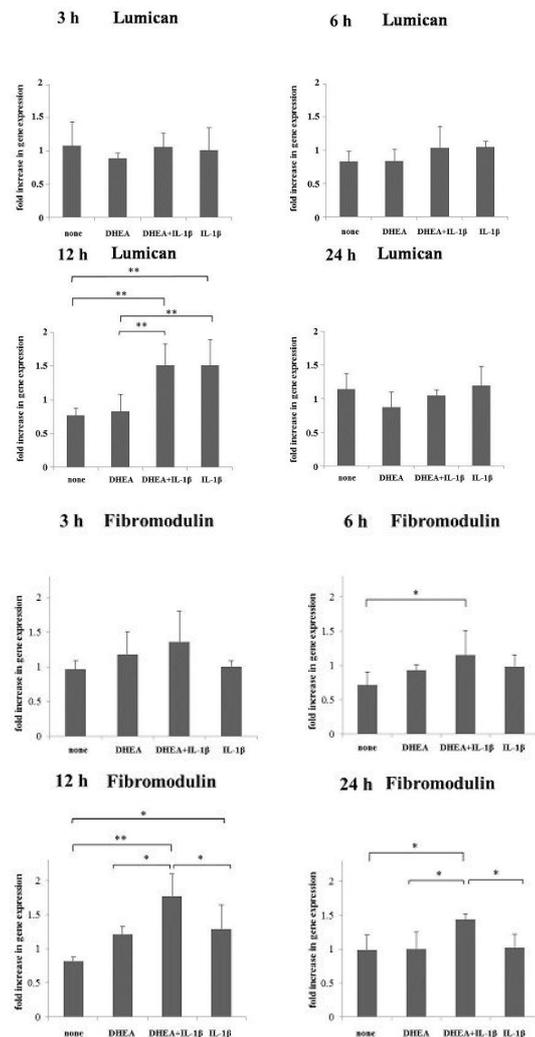
3) ヒト顎関節滑膜細胞を用いて蛍光免疫染色を行った。

ヒトの顎関節滑膜細胞を通常酸素下で培養、炎症性サイトカイン IL-1 及び DHEA を添加、24 時間後にルミカン、ファイロモジュリン抗体を用いて、蛍光免疫染色を行い比較検討した。

4. 研究成果

1) ヒト関節滑膜を用いた免疫組織化学的染色。ルミカン：肥厚した顎関節滑膜、健常な顎関節滑膜に強い発現を認めた。ファイロモジュリン：肥厚した顎関節滑膜の表層はほとんど発現はみとめられず、健常な顎関節滑膜には発現が認められた。

2) ヒト顎関節滑膜培養細胞を用いた実験 (realtime RCR)。



ルミカン：通常酸素下における IL-1、DHEA 刺激 12, 24 時間培養で mRNA の発現が、DHEA

の刺激の有無に関わらず、IL-1 刺激ありに IL-1 刺激なしと比較して有意に増加した。DHEA の刺激には有意な変化は見られなかった。

ファイブロモジュリン：通常酸素下における IL-1 、 DHEA 刺激で IL-1 + DHEA 刺激は、DHEA、IL-1 単独の刺激より有意に増加した。

3)ヒト顎関節滑膜細胞を用いた実験。(蛍光免疫染色)

ルミカン：通常酸素下における IL-1 、 DHEA 刺激 12,24 時間培養で mRNA の発現が、DHEA の刺激の有無に関わらず、IL-1 刺激ありは IL-1 刺激なしと比較して蛍光発現が有意に増加した。DHEA の刺激には有意な変化は見られなかった。ファイブロモジュリン：通常酸素下における IL-1 、DHEA 刺激で IL-1 、 DHEA 刺激は、コントロール群と比較し有意に蛍光発現が増加した。

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 2 件)

- 1 . K. Okamoto, N. Kiga, Y. Shinohara, I. Tojyo, S. Fujita Effect of interleukin-1beta and dehydroepiandrosterone on the expression of lumican and fibromodulin in fibroblast-like synovial cells of the human temporomandibular joint. Eur J Histochem. 59 30-38, 2015 doi: 10.4081/ejh.2015.2440.査読あり
- 2 . 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. 58(4), 263-270, 2014 doi: 10.4081/ejh.2014.2337.査読あり

[学会発表](計 10 件)

- 1 . 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
- 2 . 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 IL-1 投与下の顎関節症滑膜細胞における DHEA の効果 第 26 回日本顎関節学会総会 2014.7 福岡市
- 3 . 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

- 4 . 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
- 5 . 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 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
- 6 . 篠原 裕志、松本 隆司、東條 格、藤田 茂之 テネイシン 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
- 7 . 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.
- 8 . 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.
- 9 . 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.
- 10 . 篠原 裕志、東條 格、郷 与志彦、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

[図書](計 0 件)

[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

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

(2)研究分担者

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

(3)連携研究者

該当なし