

平成 23 年 5 月 6 日現在

研究種目：基盤研究 (C)  
 研究期間：2007 ～ 2009  
 課題番号：19592323  
 研究課題名 (和文)  
 変形性顎関節症の発症機序と病態の解明：破骨細胞に対する性ホルモンの影響  
 研究課題名 (英文)  
 Effects of sexual hormones for osteoclasts of temporomandibular joint disorders  
 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

研究成果の概要 (和文)：顎関節症で骨変形が生じる原因は不明であるが骨の吸収に関わる破骨細胞が関与している可能性があり、今研究によって破骨細胞分化因子と抑制因子のバランスによって骨変形が生じることが明らかとなった。また動物実験で環境ホルモンであり、性ホルモン類似作用をもつビスフェノールを妊娠マウスに投与すると新生児マウスの顎の発育不全を見たことから顎関節症の骨変形に対して性ホルモンの関与が示唆された。

研究成果の概要 (英文)：To investigate the possible influences of estrogen on the development of osteoarthritis (OA), the effects of Bisphenol-A (BPA), an analogue of estrogen, on the development of the temporomandibular joints in mice fetuses were examined. The temporomandibular joints was reduced in volume and cell number in the BPA groups. The low concentration groups (0.2-2  $\mu$ g/kg) demonstrated the smallest volume and lowest cell number. BPA administration appeared to affect the development of the mandibular condyle in mice.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2008 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2009 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,050,000	4,750,000

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：(1)顎関節症 (2)破骨細胞 (3)破骨細胞分化促進因子 (4)破骨細胞分化抑制因子 (5)滑液 (6)滑膜 (7)ビスフェノール A (8)性ホルモン

## 1. 研究開始当初の背景

近年、世界的規模で高齢化社会への移行が進んでいる。我が国でも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老人性疾患の急増が社会的問題になりつつある。変形性関節症や女性特有の骨粗鬆症の一般的な特徴としては破骨細胞による骨吸収の亢進やエストロゲンなど女性ホルモンが重要な役割を担っており、両者が相互に関連し病態を形成している。骨変形を有する顎関節症においても類似の患者背景を持つことから、破骨細胞分化・抑制因子を介した破骨細胞に対してエストロゲンなど女性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や病態の解明のみならず、新規治療薬の開発への足掛かりとなると考えられる。

## 2. 研究の目的

破骨細胞を介した変形性顎関節症の発症機序と病態機構に対して性ホルモンであるエストロゲンなどがどのように影響するかを明らかにすること。

## 3. 研究の方法

基礎的臨床的研究としては顎関節症患者の滑液や滑膜検体を用い、破骨細胞に関連した破骨細胞分化・抑制因子などの検出を行う。基礎的研究としてエストロゲン投与などによる動物モデルを用いて顎関節組織の状態を解析する。

## 4. 研究成果

### (1) 臨床的・基礎的研究

顎関節症患者の関節内組織を採取して破骨細胞分化因子 (RANKL)・抑制因子 (OPG) の発現・局在部位を光学的免疫組織化学的手法で証明し、関節鏡視での臨床所見と比較検討し、病態の重症度との検討を行った。

対象・方法は手術適応の顎関節症 IIIb 型 30 関節・IV 型 20 関節に対して全麻下で上関節腔の診断的鏡視により軟骨の退行変性、滑膜炎の程度を各 10 点法による定量的評価を行った。続いて滑膜組織を採取し、4%PFA で固定後、パラフィン切片を作製した。抗ヒト RANKL 抗体を用い ABC 法による免疫染色を行い、組織中の RANKL の局在とその陽性率を算定し、鏡視所見と比較検討した。

結果は・RANKL、OPG は血管内皮細胞、滑膜細胞、線維芽細胞に局在していたが、RANKL の局在と平均陽性率は滑膜細胞で 64% (2-97)、血管内皮細胞で 74% (8-98)、線維芽細胞で 63% (5-97) であったが、いずれも鏡視所見 (軟骨の退行変性: 平均 3 (0-10)、滑膜炎: 平均 5 (2-9)) との間に相関を認めず、OPG 陽性率と退行変性の程度との間に相関を認めたことから、滑膜組織における RANKL の発現は

破骨細胞の分化の供給源となる可能性を示唆する一方で、退行変性は OPG の発現に影響されるのではないかと推察された。

### (2) 臨床的研究

『顎関節症の簡易滑液検査－尿検査試験紙を用いた予備的検討－』顎関節症 132 関節、健常者 10 関節の滑液を回収し、尿検査試験紙を用い、蛋白を尿自動分析器で比色測定を行った。また蛋白濃度の定量測定と希釈率補正のための蛋白/クレアチニン比も測定し検討した。

結果は試験紙と定量した蛋白の間に正の相関があった ( $r=0.61$ ,  $p<0.0001$ )。蛋白/クレアチニン比はクレアチニン 1mg あたりの蛋白量が健常者群で平均 1.5g、患者群では 7g と有意に上昇していた。これらから試験紙が滑液検査に応用できる可能性が示唆された。また希釈率の補正としてクレアチニン測定が有用となる可能性も示唆された。

### (3) 基礎的研究

変形性顎関節症の発症機序を調べる目的で、エストロゲン様作用を持つビスフェノール A (BPA) を胎生期に投与し、マウス胎児下顎頭の発生に及ぼす影響を組織学的定量解析で評価した。ICR 雌性妊娠マウスに対して 12-16dpc (膣栓+ : 0dpc) に連日 BPA を経口投与 (BPA 群 : 濃度 0.2、2、20、2,000、200,000、500,000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。母獣は各 3 頭)、コントロール (C0 群) としてコーン油 (2.5ml/kg) も同様に投与した。出生 1 日目のマウス新生児各 10-12 匹を屠殺し、20  $\mu\text{m}$  厚のパラフィン切片を作製後に HE 染色し、下顎頭の細胞数と体積を Stereo Investigator (MBF 社製) を用いて測定した。

【結果】下顎頭の平均細胞数 ( $\times 10^4$  個) は C0 群が 6.1、BPA 群は 0.2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  で 2.2、2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  で 1.5、20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  で 3.0、2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  で 2.8、200,000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  で 2.6、500,000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  で 2.2 であった。下顎頭の平均体積 ( $\times 10^6 \text{cm}^3$ ) は C0 群が 17、BPA 群は 0.2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  で 4.2、2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  で 2.5、20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  で 9.5、2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  で 8.5、200,000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  で 7.6、500,000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  で 6.0 であった。このように BPA 群では C0 群に比べて 2 相性に下顎頭の発育低下を認め、特に低濃度で下顎頭の発育低下が顕著であった。

【考察】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エストロゲンレセプターを介した性ホルモンの影響を受けていることが示唆された。

## 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 8 件)

①Yoshimura H, Sugai T, Honjo M, Kaneyama K, Segami N, Kato N.

Application of caffeine reveals input frequency-dependent determination of signal-traveling routes between primary and secondary visual cortices in rats. Neurosci Res. 2010 Jan;66(1):30-6. 査読有

②Kaneyama K, Segami N, Hatta T.

Congenital deformities and developmental abnormalities of the mandibular condyle in the temporomandibular joint.

Congenit Anom (Kyoto). 2008 Sep;48(3):118-25. Review. 査読有

③Sun W, Dong L, Kaneyama K, Takegami T, Segami N. Bacterial diversity in synovial fluids of patients with TMD determined by cloning and sequencing analysis of the 16S ribosomal RNA gene.

Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2008 May;105(5):566-71. 査読有

④Kaneyama K, Segami N, Sato J, Yoshimura H, Nishiura R.

Expression of receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand in synovial tissue: comparison with degradation of articular cartilage in temporomandibular joint disorders.

Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2007 Aug;104(2):e12-7. 査読有

⑤Sato J, Segami N, Nishimura M, Yoshitake Y, Kaneyama K, Kitagawa Y.

Expression of interleukin 8 in synovial tissues in patients with internal derangement of the temporomandibular joint and its relationship with clinical variables.

Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2007 Apr;103(4):467-74. 査読有

⑥Kaneyama K, Segami N, Sato J, Fujimura K, Nagao T, Yoshimura H.

Prognostic factors in arthrocentesis of the temporomandibular joint: Comparison of bradykinin, leukotriene B4, prostaglandin E2, and substance P level in synovial fluid between successful and unsuccessful cases.

J Oral Maxillofac Surg. 2007 Feb;65(2):242-7. 査読有

⑦Sato J, Segami N, Yoshitake Y, Kaneyama K, Yoshimura H, Fujimura K, Kitagawa Y.

Specific expression of substance P in synovial tissues of patients with symptomatic, non-reducing internal derangement of the temporomandibular joint: comparison with clinical findings. Br J Oral Maxillofac Surg. 2007 Jul;45(5):372-7. 査読有

⑧ Kaneyama K, Segami N, Shin-Ichi T, Fujimura K, Sato J, Nagao T.

Anchored disc phenomenon with a normally positioned disc in the temporomandibular joint: characteristics and behaviour.

Br J Oral Maxillofac Surg. 2007 Jun;45(4):279-83. Epub 2006 Oct 23. 査読有

[学会発表] (計6件)

①加々美恵子、瀬上夏樹、金山景錫、吉村弘  
顎関節脱臼に対する直達法による局麻下手術の評価:日本口腔外科学会総会、H20. 10. 18. 札幌市

②本庄美穂、出村昇、金山景錫、瀬上夏樹  
治療困難であった Bilateral Craniofacial Microsomia の1例:日本口腔科学会、H20. 5. 17. 名古屋市

③瀬上夏樹、金山景錫、出村昇、本庄美穂  
化膿性顎関節炎を疑わせた顎関節症の2例:日本口腔科学会、H20. 5. 17. 名古屋市

④瀬上夏樹、孫い、金山景錫、出村昇、吉村弘、長尾寿和、西浦里英、宮田薫  
顎関節症の病態形成に細菌感染は関与するか 患者滑液における遺伝子解析。日本口腔科学会 H19. 5. 19. 名古屋市

⑤西浦里英、金山景錫、出村昇、吉村弘、長尾壽和、宮田薫、瀬上夏樹。  
習慣性顎関節脱臼に対する鏡視下関節結節形成術の長期および短期評価。日本口腔科学会 H19. 5. 19. 名古屋市

⑥金山景錫、西浦里英、吉村弘、瀬上夏樹  
顎関節症の簡易滑液検査 尿検査試験紙を用いた予備的検討:日本口腔科学会総会 H19. 4. 20. 福岡市

## 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

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

長尾 壽和 (NAGAO TOSHIKAZU)  
金沢医科大学・医学部・助教  
研究者番号：70387364 (H19→20)