

## 自己評価報告書

平成 23 年 4 月 8 日現在

機関番号：32409  
 研究種目：基盤研究（C）  
 研究期間：2008～2011  
 課題番号：20592344  
 研究課題名（和文） HUMARA assay および免疫染色を用いた咀嚼筋腱膜過形成症の病態解明  
 研究課題名（英文） The analysis of pathological condition in masticatory muscle tendon-aponeurosis hyperplasia using HUMARA assay and immunostaining methods  
 研究代表者  
 依田 哲也（YODA TETSUYA）  
 埼玉医科大学・医学部・教授  
 研究者番号：60242210

研究分野：口腔外科

科研費の分科・細目：外科系歯学

キーワード：HUMARA assay、咀嚼筋腱膜過形成症、免疫染色

## 1. 研究計画の概要

咀嚼筋腱・腱膜過形成症患者の病態について、組織学的には腱・腱膜過形成が起こっているとされているが、科学的証拠が不十分で組織学的特徴に乏しい。そこで我々は、咀嚼筋腱膜過形成症患者の組織学的特徴を分子レベルで明確にすることを目的とした。その方法として、免疫組織学的手法による分子の発現パターンの検討；免疫染色によるタンパク質発現解析 細胞のクローナリティー解析；1つの細胞が増殖しているのか（モノクローナルな増殖；腫瘍性増殖）、または多数の細胞が増殖しているのか（ポリクローナルな増殖；反応性増殖）を行う。

## 2. 研究の進捗状況

クローナリティー解析については、X 染色体不活化を利用した実験系である human androgen receptor：HUMARA を行った。細胞を採取する際、できるだけ解析目的以外の細胞の DNA の混入を避ける必要があるため microdissection により細胞の採取を行った。手術室で切除した組織サンプルを組織免疫染色用およびクローナリティー解析用にメスで切除して分けて実験室の - 80 に保存した。通法に従って組織切片を作製し、Smad8, Tenomodulin, GDF-8, GDF-5 について免疫染色を行った。その結果、各分子はタンパク質レベルで強く発現しており、咀嚼筋腱・腱膜過形成症患者の腱組織での発現が確認された。とくに筋組織と腱組織の境界領域において発現が認められた。

咀嚼筋腱・腱膜過形成症の検体で解析したのは現在のところ 5 例であった。本疾患患者の腱組織において、腱細胞の反応性増殖を支持するデータが得られている。腱の増殖・分化に関わる分子である Tenomodulin および

Smad8 の発現が認められていることなどを見出している。以上のデータから、本疾患患者の腱組織では、何らかの要因が腱細胞への分化および増殖を引き起こしており、その増殖様式はポリクローナルな増殖であることが示唆された。しかしながら、上記タンパク質のみの検討では、病態解明には不十分であり、腱および腱膜の過形成にどのようなタンパク質が関与しているかを検索する必要が生じたために、2次元電気泳動による受託解析を行った。その結果、collagen 6A1 の発現が上昇していた。

## 3. 現在までの達成度

おおむね順調に進展している。  
 （理由）サンプルは 5 例集まっており、当初の目標である 8 例に近付いている。サンプル処理の工夫により実験もうまくいっている。

## 4. 今後の研究の推進方策

免疫染色法では定量的な結果が得られないため、今後はサンプルからタンパク質を抽出して、ウエスタンブロッティング法による半定量的なタンパク質発現を行い検討する。

## 5. 代表的な研究成果

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔学会発表〕（計 1 件）

佐藤毅 中本文 安部貴大 堀直子 中本紀道 福島洋介 坂田康彰 依田哲也 咀嚼筋腱膜過形成症におけるタンパク質プロファイリング 第 23 回日本顎関節学会学術大会 東京 平成 22 年 7 月 24 日 船堀