

平成21年6月8日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：平成19年度～平成20年度
 課題番号：19791594
 研究課題名（和文）性差が顎関節円板の細胞外マトリックスに及ぼす影響に関する分子生物学的研究
 研究課題名（英文）A molecular biological study that sex differences influences extracellular matrix of the temporomandibular joint disc.

研究代表者
 鳥谷 奈保子（トリヤ ナオコ）
 北海道医療大学・歯学部・助教
 研究者番号：20433435

研究成果の概要：ラット顎関節円板における各種プロテオグリカンの mRNA 発現は、成長に伴い変化すること、および領域差を示すことが明らかとなった。このことは、成長に伴うラットの顎口腔機能の発達、あるいは顎関節における生力学的環境の変化が関与していることを示唆した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,200,000	0	1,200,000
2008年度	1,900,000	570,000	2,470,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	570,000	3,670,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：矯正・小児系歯学

キーワード：顎関節円板・細胞外マトリックス・レーザーマイクロダイセクション・性ホルモン

1. 研究開始当初の背景

近年、顎関節症患者の増加とその若年化傾向が歯科学全体での大きな問題となっており、その原因の究明が求められている。また、矯正歯科の領域においても、顎関節症の一つである下顎頭の退行性変化によって、重度の骨格型の下顎後退症、あるいは非対称を引き起こすことが報告されているが、それに対する有効な治療方法も確立されていない。現在までのところ、顎関節症の発症に関する正確なメカニズムは不明である。

また、顎関節症のような慢性疾患では、環境と宿主という2つの因子間における相互バランスの破綻によって発病するという考えが提唱されてきており、環境要因として、ブラキシズム等のパラファンクション、慢性的外傷、ホルモンバランスの破綻、咬合異常等が危険因子として指摘されている。顎関節は、骨、軟骨、繊維性結合組織、靭帯といった様々な結合組織から構成されている。これら結合組織の主要な細胞外マトリックスは、コラーゲンとプロテオグリカンであるが、これらの

細胞外マトリックスは細胞の増殖・分化・遊走過程、あるいは組織の機械的強度、病態変化と密接な関連性を有していることが知られている。また顎関節症の疫学では顎関節症患者集団を対象とした場合、女性は男性よりも多く、1.7～9 倍の差が報告されている (Helkimo, M. et al., 1979; Rieder, C.E et al., 1983) が、同集団において女性が男性より、より多くの症状を有しているという証拠は示されておらず、この問題に対して、組織学的、心理学的要因など、種々考察されているが定かではない。また近年、性ホルモンによる細胞外マトリックスへの影響も報告されており、性ホルモン→細胞外マトリックスへの影響→顎関節円板結合組織強度の低下→顎関節症という、構図が考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、異なる性差、精巣卵巣の摘出、性ホルモン投与のラットを用いることにより、顎関節の細胞外マトリックス (コラーゲンおよびプロテオグリカン) の発現にどのような影響を及ぼしているのかについて、タンパク質および遺伝子レベルで分子生物学的手法を用いて解明することを目的としている。この研究から得られる所見は、顎関節症の発症のメカニズムを解明するための一助になるものと考えられる。

3. 研究の方法

レーザーマイクロダイセクションによる遺伝子組織学と real-time PCR による遺伝子発現の定量を行ない、遺伝子的にも検討を行なう。現在までの遺伝子発現の解析では、ある程度の範囲の資料からの核酸抽出を行ってきた。しかし、レーザーマイクロダイセクション法を用いることにより、詳細な部位を区別した解析が可能となった。このことにより、顎関節円板の部位による発現の特徴および相違を検討することが可能になり、顎関節円板にかかる負荷の種類による影響について検討した。

(1) レーザーマイクロダイセクション

実験期間の終了した動物の関節組織 (下顎頭と関節円板) を摘出し、凍結固定し OCT コンパウンドで包埋する。フィルムスライドガラスを用いて凍結切片を作成し、メタノールで固定後、ライカ AS LMD により組織を回収し、RT-PCR 法において各のプロテオグリカンの発現を検討した (Fig. 1)。

(2) real-time PCR による遺伝子発現の定量

実験期間の終了した動物の関節組織 (下顎頭と関節円板) を摘出し、RNA 抽出液により total RNA を抽出。デコリン、パイグリカン、ファイブロモイジュリン、ルミカン、パーシカンおよび GAPDH の primer を設計し (Table 1)、SYBER Green I を使用した real-time quantitative PCR により、顎関節円板の部位ごとの各プロテオグリカンの遺伝子発現の差異を検討した。

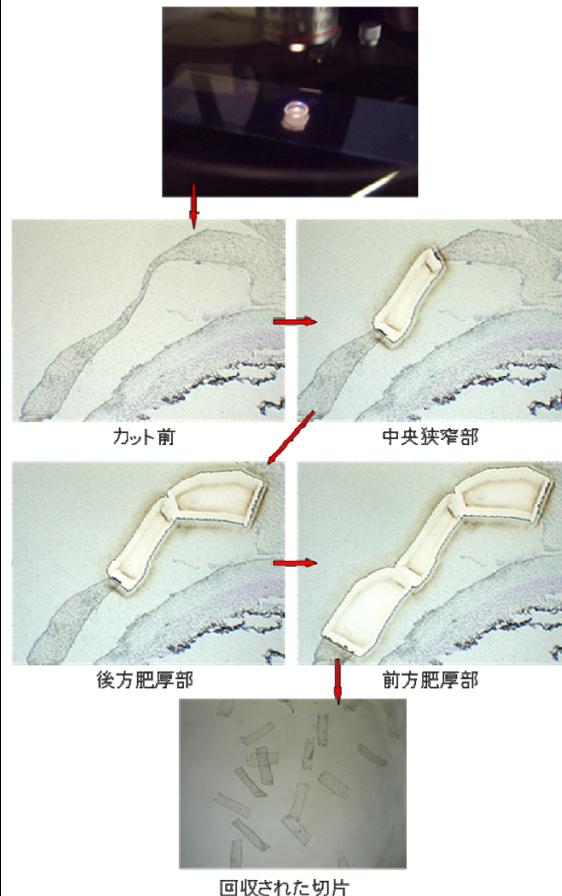


Fig. 1 顎関節円板の Laser microdissection (LMD)

Table 1. QPCR に用いた Primer の設計

proteoglycan	sequence
decorin (#X59859)	tgccgaaaaattgccraaaac atccgagacccttcattcctg
biglycan (#U17834)	cctactgggaagtgcagcct ttccaattggatggcca
fibromodulin (#X82152)	agaagatccctccgtaaacac gcttgatctcttccatccag
lumican (#X84039)	tegettccagggttc gttccaggcaegccact
versican (#AF072892)	cctgcaagaagggaacagttg ttccaaggctcttggcatttc
GAPDH (#AB017801)	tgccagatgatgacatcaagaag agccaggatgcctttagt

() : GenBank accession number

4. 研究成果

各部位における、それぞれのプロテオグリカンの mRNA 発現の変化は、前方肥厚部ではパイグリカンが最も多く、デコリン以外のプロテオグリカンで加齢に伴う減少がみられた。中央狭窄部では、パイグリカン、ファイブロモジュリンの増加がみられ、デコリン、ルミカンは一定に推移していた。また、後方肥厚部においても、パイグリカン、ファイブロモジュリンの増加およびデコリン、ルミカンでは減少がみられ、中央狭窄部と同様の変化がみられた。

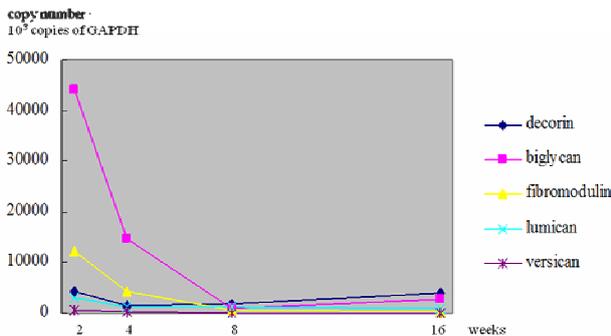


Fig. 2 前方肥厚部における mRNA 発現量の変化

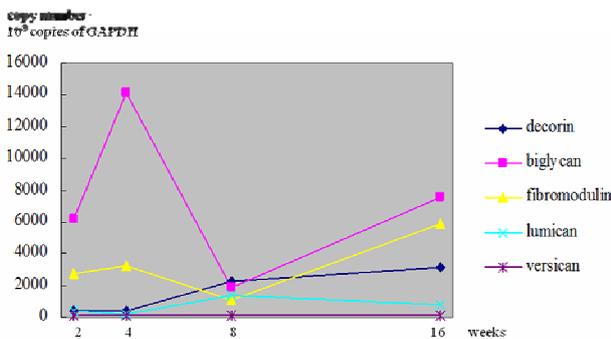


Fig. 3 中央狭窄部における mRNA 発現量の変化

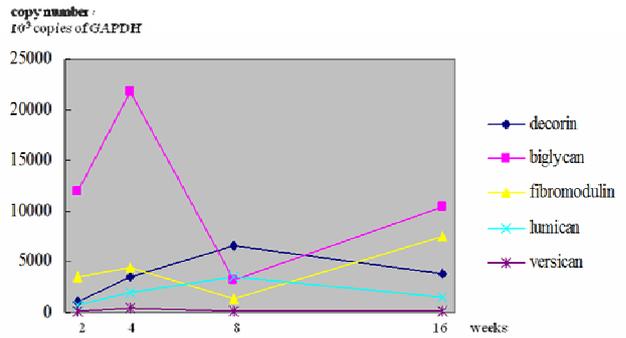


Fig. 4 後方肥厚部における mRNA 発現量の変化

【結果のまとめ】

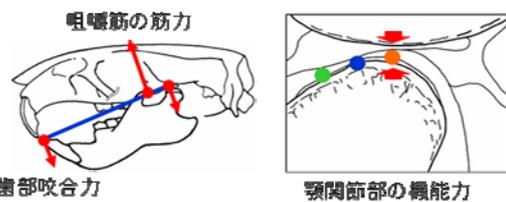
(1) 牽引力の負荷部位と考えられる前方肥厚部ではデコリン以外の SLRPs の mRNA 発現量は減少した。

(2) 圧縮力の負荷部位と考えられる中央狭窄部、後方肥厚部では mRNA 発現量は類似した様相を示し、パイグリカン、ファイブロモジュリンは 8 週齢以降増加した。

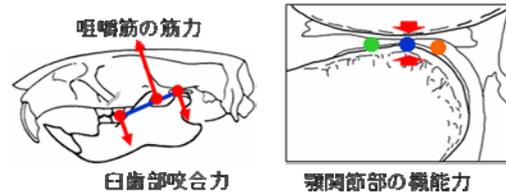
【考察】

結果より、顎関節円板の中央狭窄部と後方肥厚部においては、同様の力学的環境にあることが考えられる。切歯咬合時の咬合力が後方肥厚部に、臼歯咬合時の咬合力が中央狭窄部に負荷されることにより (Fig. 5)、前方肥厚部におけるプロテオグリカン発現との差異が生じたものと考えられる。

切歯部咬合時



臼歯部咬合時



▲ : 機能圧
● : 中央狭窄部
● : 後方肥厚部
● : 前方肥厚部

Fig. 5 ラット顎関節部の力学的環境の仮説

【結論】

ラット顎関節円板における各種プロテオグリカンの mRNA 発現は、成長に伴い変化すること、および領域差を示すことが明らかとなった。このことは、成長に伴うラットの顎口腔機能の発達、あるいは顎関節における生力学的環境の変化が関与していることを示唆した。

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 1 件)

甲田 尚久, 鳥谷奈保子, 荒川 俊哉, 田隈泰信, 溝口 到, 成長期ラット顎関節円板における proteoglycan の mRNA 発現, 北海道医療大学歯学雑誌, 第 27 巻, 第 2 号, 93-102, 2008 年, 査読有

[学会発表] (計 4 件)

Toriya N, Kohda N., Arakawa T, Takuma T, Sasano Y, Mizoguchi I. Gene Expression of Proteoglycans in TMJ Disc of Growing Rats. 86th Annual Meeting of the IADR, Toronto, Canada, July. 2008.

上地 潤、鳥谷奈保子、柴田 考典、辻 祥之、水上和博、溝口 到. 顎矯正手術シミュレーションにおける Computer-Assisted Repositioning 法の精度. 第 18 回日本顎変形症学会. 2008 名古屋.

辻 祥之、上地 潤、武田成浩、鳥谷奈保子、北所弘行、溝口 到、柴田考典. 顎顔面骨格の表面形状に基づく空間的基準平面の設定と精度. 第 18 回日本顎変形症学会. 2008 名古屋.

甲田 尚央、鳥谷奈保子、坂倉 康則、荒川 俊哉、笹野 泰之、溝口 到. 成長期ラット顎関節円板における proteoglycan の mRNA 発現. 第 67 回日本矯正歯科学会学術大会. 2008 千葉.

6. 研究組織

(1)研究代表者

鳥谷 奈保子 (TORIYA NAOKO)

北海道医療大学・歯学部・助教

研究者番号 : 20433435

(2)研究分担者

()

研究者番号 :

(3)連携研究者

()

研究者番号 :