

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K10135

研究課題名(和文) 変型TIMP-3を用いた選択的軟骨破壊阻害による進行性下顎頭吸収の抑制

研究課題名(英文) Inhibition for progressive mandibular condylar resorption by selective cartilage destruction inhibition using modified TIMP-3

研究代表者

大井 一浩(Ooi, Kazuhiro)

金沢大学・附属病院・講師

研究者番号：90451450

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：われわれは国際研究プロジェクトとしてリバプール大学と共同で、STR/ortマウスで顎関節の下顎頭吸収を自然に発症するかどうかを調査しSTR/Ort マウスは、対照として使用した CBA マウスよりも 20 週齢以降に下顎頭吸収の発現が高いことを見出した。また、選択的にアグリカナーゼを阻害する[-1A]TIMP-3 がSTR/Ort マウスの下顎頭吸収の進行を抑制することを明らかにした。これらの研究データは、アグリカナーゼが下顎頭吸収における主要な軟骨分解酵素であること、[-1A]TIMP-3 が下顎頭吸収の有効な治療になりうる可能性を示唆している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

進行性下顎頭吸収(以下PCR)は顎関節を構成する下顎頭の吸収が進行性に短期間で生じ、下顎後退や開咬により咀嚼障害などの著しいQOLの低下を招く難治性疾患で、患者は顎関節の痛み、開口障害、不正咬合などで食事や会話に支障をきたす。これまでPCRの発症メカニズムが十分に明らかにされなかったため発症を抑制する根本的な治療はなかったが、本研究の結果により今後、PCRの薬物療法などにつながる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We investigated whether STR/ort mice spontaneously develop mandibular condylar resorption in the temporomandibular joint as part of an international research project in collaboration with the University of Liverpool. We found that STR/Ort mice showed a higher incidence of mandibular condylar resorption after 20 weeks of age than control CBA mice. We also demonstrated that [-1A]TIMP-3, which selectively inhibits aggrecanase, suppresses the progression of condylar resorption in STR/Ort mice. These data suggest that aggrecanase is the major cartilage-degrading enzyme in mandibular condylar resorption and that [-1A]TIMP-3 may be an effective treatment for progressive mandibular condylar resorption.

研究分野：口腔顎顔面外科

キーワード：進行性下顎頭吸収 マウスモデル 発症メカニズム 発症抑制

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

進行性下顎頭吸収 (PCR)は、顎関節を構成する下顎頭の吸収が進行性に短期間で生じ、下顎後退や開咬により咀嚼障害などの著しい QOL の低下を招く難治性疾患で、2011 年に本邦において難病に指定された(図 1,2)。PCR の発症には力学的な関与が疑われているが、基礎研究が進んでおらず、原因はほとんど不明で根本的な治療法は未だ確立されていない。これまで研究代表者は、英国リバプール大学との共同研究において、膝の変形性関節症(OA)を自然発症する STR/ort マウスに PCR 様の下顎頭吸収を見出し(図 3)、下顎頭の軟骨破壊においてアグリカナーゼが重要な役割を果たしていることを発見した。

### 2. 研究の目的

本研究では、ヒトと STR/ort マウスの PCR 組織を比較解析して PCR の疾患マウスモデルを確立させ、このマウスにリバプール大学が開発したアグリカナーゼを選択的に阻害する改変型 TIMP-3 ([-1A]TIMP-3) を遺伝子導入して、リバプール大学との国際共同研究として、メカニカルストレス刺激下に骨・軟骨・筋・腱などの多種組織を解析する。そこで、各分野の専門家の力を結集して[-1A]TIMP-3 による下顎頭軟骨破壊の抑制効果を多角的に分子レベルで解明し、[-1A]TIMP-3 を用いた PCR に対する新たな分子標的薬の開発を目指す。

### 3. 研究の方法

1)マウスの作製：メカニカルストレスとして装置による下顎前方牽引(前方牽引群)、下顎骨切りによる一期的な下顎前方移動(手術群)を行い、a)未処置群、b)前方牽引群と c)手術群、[-1A]TIMP-3 遺伝子改変を付与した d) [-1A]TIMP-3 未処置群、e) [-1A]TIMP-3 前方牽引群、f) [-1A]TIMP-3 手術群の計 6 群を作製する。未処置群は 10、20、40、60 週齢、前方牽引群は 10 週齢から定期的に刺激を加え 20 週齢、手術群は 10 週齢で手術を行い 20 週齢で標本作製する。2)ヒト PCR 手術組織：リバプール大学附属病院で行われた PCR に対する顎関節解放手術の組織を用いる。3)Genotyping: [-1A]TIMP-3 STR/Ort マウスの genotyping を行い、[-1A]TIMP-3 遺伝子の定量と各評価項目との関連性を検討する。4)画像解析:動物用 micro CT 装置を用いて下顎頭について解像度 5 $\mu$ m で下顎頭形態と骨密度を評価する。in vivo で micro MRI 装置を用いて下顎頭骨変化や関節円板転位を評価する。5)遺伝子発現解析:下顎頭軟骨組織を液体窒素で粉碎し、RT-PCR 法で[-1A]TIMP-3、各種 MMP, ADAMTS4/5 の遺伝子発現量を測定する。同様の方法で下顎頭外側翼突筋附着部組織からスクレラキス、SOX9 の遺伝子発現量を測定する。6)細胞培養:腱細胞を単離して、multi-network chamber を用いた Shear-Stress Model にて、機械圧の変化におけるスクレラキスの発現を観察する。7)病理組織学的解析:マウスおよびヒトの下顎頭組織をサフラニン O 染色にて軟骨破壊を観察し、[-1A]TIMP-3、1,2 型コラーゲン、骨形成マーカーを免疫染色で発現を観察する。

#### 4 . 研究成果

STR/Ort マウスは、対照として使用した CBA マウスよりも 20 週齢以降に 顎関節 OA の発現が高いことを見出した。また、われわれのグループは、選択的にアグリカナーゼを阻害する [-1A] TIMP-3 が STR/Ort における膝関節 OA の発症を抑制することを実証し、膝関節 OA における主要な軟骨分解酵素が MMP ではなく、アグリカナーゼであることを明らかにした。この研究は、[-1A] TIMP-3 が膝関節 OA における軟骨破壊を防ぐ治療効果があること示している。さらに、[-1A] TIMP-3 が STR/Ort マウスの 顎関節 OA の進行を抑制できるかどうかも調査したところ、抑制することが判明した。これらの研究データは、アグリカナーゼが顎関節 OA における主要な軟骨分解酵素であること、[-1A] TIMP-3 が顎関節 OA の有効な治療になりうる可能性を示唆している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yamashita-futani Yoko, Jokaji Rei, Ooi Kazuhiro, Kobayashi Kazuhiko, Kanakis Ioannis, Liu Ke, Kawashiri Shuichi, Bou-gharios George, Nakamura Hiroyuki	4. 巻 14
2. 論文標題 Metalloelastase 12 is involved in the temporomandibular joint inflammatory response as well as cartilage degradation by aggrecanases in STR/Ort mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biomedical Reports	6. 最初と最後の頁 1,8
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/br.2021.1427	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 大井一浩	4. 巻 35
2. 論文標題 遺伝子改変 STR/Ort マウスを用いた変形性顎関節症の病態解明と発症抑制の試み	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 日本顎関節学会雑誌	6. 最初と最後の頁 129,136
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Yutaka Kobayashi, Kazuhiro Yamamoto, Ioannis Kanakis, Akinobu Kawano, Yoko Yamashita, Takao Sakai, Fadi Jarad, Hiroyuki Nakamura, Shuichi Kawashiri, George Bou-Gharios, Kazuhiro Ooi.
2. 発表標題 Targeted inhibition of aggrecanases inhibits the progression of age-dependent cartilage degradation in a temporomandibular joint in the STR/Ort mice
3. 学会等名 Cutting Edge Osteoarthritis Meeting（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大井一浩
2. 発表標題 遺伝子改変STR/Ortマウスを用いた変形性顎関節症の病態解明と発症抑制の試み
3. 学会等名 第35回一般社団法人日本顎関節学会総会・学術大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
英国	University of Liverpool	Lifecourse and Medical Sciences	Musculoskeletal and Ageing Science	他1機関