

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月 24日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22592294

研究課題名（和文） 顎関節への負荷頻度上昇が関節軟骨内アスポリン過剰発現を介したOAの発症をもたらす

研究課題名（英文） Load frequency to temporomandibular joint brings about the osteoarthritis through the asporin expression in the articular cartilage

研究代表者

米満 郁男（YONEMITSU IKUO）

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・助教

研究者番号：00431940

研究成果の概要（和文）：5週齢ラットの片側咬筋を切除し、咀嚼筋力の左右不均衡による下顎の側方偏位モデルを作製した。筋切除2、4週後における顎関節において、OA様変化の有無について組織学的に検討した。micro-CTを用いた下顎頭軟骨下骨の3次元骨形態計測の結果、実験群切除側下顎頭における海面骨の骨体積、骨密度の減少を認めた。また、顎関節前頭断パラフィン切片を作製、toluidine blue染色にて下顎頭軟骨層厚径変化を観察した結果、過去の下顎側方偏位モデルと同様の形態変化を示した。さらに、OA関連タンパクである asporin および軟骨修復に関与する TGF- β 1 の免疫組織化学染色を行い、顎関節 OA 様モデルにおける asporin の発現を明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

In the experimental group, unilateral masseter muscles of 5-week-old rats were resected to represent the animal model of deviated mandible. Two and four weeks after muscle resection, their condyles were observed to detect whether OA-like change occurs. Micro-CT was used for three-dimensional morphological analysis. In the experimental group, the cancellous bone volume and bone density of the condyles were decreased in the resected side. For histological examination, the specimens were embedded in paraffin and 5- μ m-thick serial frontal sections of the TMJ were stained with toluidine blue. As a result, the morphological changes of cartilage layers were similar to the past mandibular functional lateral shift model. Furthermore, immunohistochemical staining of asporin which are OA-related protein and of TGF- β 1 which participates in cartilage repair were performed. We revealed that the expression of asporin in the temporomandibular joint cartilage in the OA-like animal model

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
2012年度	300,000	90,000	390,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学／矯正・小児系歯学

キーワード：顎関節・asporin・OA

1. 研究開始当初の背景

変形性関節症（OA）は、顎関節も含め様々な関節において発症する。その中でも、膝 OA は最も頻度の高い疾患であり、超高齢社会の日本国内における患者数も約 1000 万人を数えると言われる。その原因遺伝子として 2005 年、Ikegawa らにより、軟骨中に存在するタンパクの 1 つである asporin の関与が報告された。軟骨損傷を修復する TGF- β 1 などの成長因子による細胞の分化、基質の産生能が asporin 過剰発現により低下することが報告されている。しかし、顎関節領域では未だ明らかにされていない。そこで我々は、下顎頭に侵害刺激が加わるモデルを作製し、軟骨内の asporin 発現について免疫組織学的に解明することを目的として、研究開始に至った。

2. 研究の目的

顎関節領域では先行研究の存在しない OA への asporin の関与について明らかにすることで、顎関節症の一因を新たに解明することを目的とした。

3. 研究の方法

片側顎関節に侵害刺激を与えるモデルを作製するために、以前より我々の研究グループで用いてきた両側咬筋切除モデルを応用することを考えた。5 週齢にて片側咬筋を切除し、2 週後、4 週後に顎関節の組織学的評価を行った。

(1) 先ず、乾燥頭蓋標本作製し、実験群下顎頭の明らかな形態変化を確認した。



(図 1) 実験群の下顎骨乾燥当該標本。左が非切除側、右が切除側。

(2) 下顎頭軟骨下骨の詳細な変化を探るべく、micro-CT を用いた 3 次元骨形態計測を行った。

(3) 灌流固定、通法に従いパラフィン包埋した後に 5 μ m 顎関節前頭断切片を作製し、

中央部の切片に対して

① toluidine blue 染色

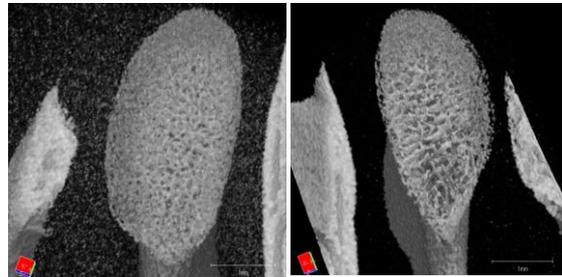
② 下顎頭軟骨における抗 asporin 抗体および抗 TGF- β 1 抗体の免疫組織化学染色を行った。

(4) 研究実施計画に記載した顎関節円板の性状測定についても今後併せて行っていく予定である。

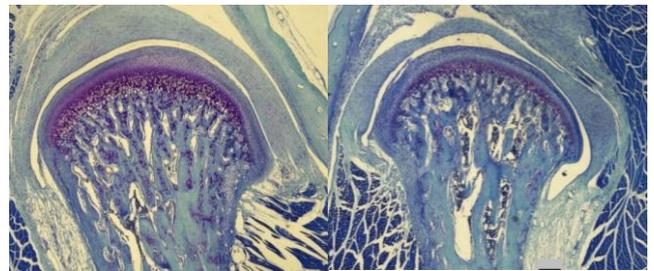
4. 研究成果

(1) 実験群切除側下顎頭における海面骨の骨体積、骨密度の減少が認められた。

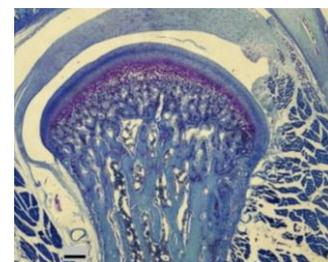
(図 2) 実験群下顎頭 micro-CT 画像。左が非切除側、右が切除側。



(2) toluidine blue 染色において先行研究の他の下顎側方偏位モデルと同様の下顎頭軟骨層厚径の変化を示した。偏位側外側の扁平化、非偏位側頭頂部の肥大を確認した。



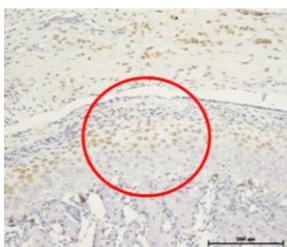
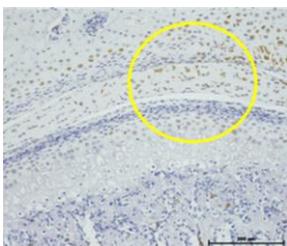
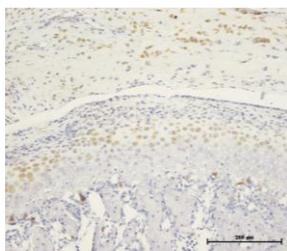
(図 3 - 1) 実験群 toluidine blue 染色像。左が非切除側、右が切除側。



(図3-2) 対象群 toluidine blue 染色像

(3) OA 関連タンパクである asporin および軟骨修復に働く TGF- β 1 の免疫組織化学染色を行った結果、切除側の抗 asporin 抗体免疫陽性細胞数が明らかに減少し、これまで明らかにされてこなかった顎関節 OA への asporin 関与の可能性を明らかにした。TGF- β 1 については、現在解析中である。

本研究は、先行研究を応用した新たな実験モデルを作製しており、咀嚼筋力の左右不均衡が顎関節にもたらす影響を明らかにした。また、下顎頭に非生理的的刺激が加わった際の軟骨内 asporin 過剰発現を明らかにしたことは、未解明な部分の多い顎関節 OA の病因解明のために非常に有意義な結果であると考えられる。



(図4) 抗 asporin 抗体免疫染色像。上から対象群、実験群非切除側、実験群切除側

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) Ikuko Kure-Hattori, Ippei Watari, Maki Takei, Yuji Ishida, Ikuo Yonemitsu, Takashi Ono. Effect of functional shift of the mandible on lubrication of the temporomandibular joint. Archives of Oral Biology 2012 Jul;57(7): 987-94 査読有

(2) Kuroda Y, Yonemitsu I, Hosomichi J, Watari I, Takei M, Ishida Y, Ono T. Intermittent posterior displacement of the rat mandible in the growth period affects the condylar cancellous bone. Angle Orthodontist 2011 Nov;81(6): 975-82 査読有

[学会発表] (計 3 件)

(1) Mutsumi Miyazaki, Ikuo Yonemitsu, Ikuko Kure-Hattori, Takashi Ono Imbalanced masticatory muscle activity leads to laterality of condylar growth 89th Congress of the European Orthodontic Society 2013 年 06 月 26 日~06 月 29 日 Reykjavik, Iceland

(2) 服部育子, 渡一平, 武居真希, 石田雄之, 米満郁男, 小野卓史 成長期の下顎骨機能的側方偏位が顎関節潤滑能に及ぼす影響について 第 76 回口腔病学会学術大会 2011 年 12 月 9, 10 日 東京医科歯科大学

(3) 武居真希, 米満郁男, 渡一平, 小野卓史 成長期における咀嚼筋力低下がラット下顎頭軟骨下骨に与える影響 日本矯正歯科学会 2010 年 9 月 27~29 日パシフィコ横浜

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

米満 郁男 (YONEMITSU IKUO)
東京医科歯科大学・医歯学総合研究科・助教
研究者番号：00431940

(2) 研究分担者

藪下 忠親 (YABUSHITA TADACHIKA)
東京医科歯科大学・医歯学総合研究科・非常勤講師
研究者番号：40420260

武居真希 (MAKI TAKEI)

東京医科歯科大学・医歯学総合研究科・非常勤講師
研究者番号：50547445

(3) 研究協力者

服部育子 (IKUKO HATTORI) 医員

黒田由紀子 (YUKIKO KURODA) 大学院生

宮崎睦 (MUTSUMI MIYAZAKI) 大学院生