

Title	TMJ Degeneration in SAMP 8 Mice is Accompanied by Deranged Ihh Signaling
Author(s)	石塚, 洋一
Journal	歯科学報, 114(6): 620-621
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10130/3539">http://hdl.handle.net/10130/3539</a>
Right	

氏名(本籍)	石塚洋一 (新潟県)
学位の種類	博士(歯学)
学位記番号	第1948号(甲第1194号)
学位授与の日付	平成24年3月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	TMJ Degeneration in SAMP 8 Mice is Accompanied by Deranged Ihh Signaling DOI : 10.1177/0022034513519649
掲載雑誌名	Journal of Dental Research 第93巻 3号 281-287頁 2014年
論文審査委員	(主査) 齋藤 淳教授 (副査) 井上 孝教授 佐野 司教授 新谷 誠康教授 柳澤 孝彰教授

## 論文内容の要旨

### 1. 研究目的

顎関節は胎児期、小児期に形成された形態が様々な機能的因子から影響を受け続ける。進行した歯周病では歯の喪失や移動の結果、低位咬合などの問題が引き起こされるが、これは顎関節における退行性病変の一因とされており、歯周病の進展に伴う咬合の変化と顎関節病変の間には関連性があると考えられる。変形性顎関節症などの顎関節疾患では関節軟骨に変性や破壊が生じるが、病因として加齢による退行性変化や二次的要因として咬合異常による顎関節への機能的負荷の変化や軟骨代謝異常などが報告されている。しかし、顎関節における退行性病変の発症、進行における細胞・分子レベルのメカニズムは十分に明らかにされていない。骨・軟骨の発生、成熟に関わる分泌性タンパク質である Indian Hedgehog (Ihh) は下顎頭の発生および成長発育において、軟骨細胞の増殖、分化や軟骨基質の産生を制御することが知られている。本研究の目的は、顎関節に退行性病変を自然発症する老化促進モデルマウス (Senescence-accelerated mouse prone 8 : SAMP 8) の下顎頭軟骨の特徴を分子生物学的に解析し、機能的負荷の変化が SAMP 8 の下顎頭軟骨の退行性変化の進行とヘッジホッグ (Hh) シグナリングに及ぼす影響を明らかにすることである。

### 2. 研究方法

実験動物には2, 4か月齢の雄の SAMP 8 を使用した。野生型 (C57BL/6) マウスと SAMP 8 の比較では、下顎頭軟骨を解剖学的、組織学的、分子生物学的に検討した。さらに顎関節への機能的負荷が SAMP 8 の下顎頭軟骨に及ぼす影響を検討するため、1日おきに下顎の切歯を歯科用ダイヤモンドポイントで約1mm削合し、soft diet を与え、2週、2か月、4か月で解剖学的、組織学的および超微構造学的に観察した。分子生物学的解析は軟骨関連遺伝子および Hh シグナリング関連遺伝子の発現を *in situ* ハイブリダイゼーション法で観察し、遺伝子発現量の定量的解析はリアルタイム PCR 法で行った。また、細胞増殖は、抗 Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) 抗体を用いた免疫染色を、アポトーシスは TUNEL 染色を行い検討した。削合を行わない同齢の SAMP 8 を対照群とした。

### 3. 研究成績および考察

野生型マウスは下顎頭表層より線維層、増殖層、成熟層、肥大層の明瞭な層構造からなる成長板様構造が

認められ、*Collagen type I (Col I)*, *II (Col II)*, *X (Col X)*の遺伝子発現が認められた。さらに、前肥大層には *Ihh*、軟骨前駆細胞と幼若軟骨細胞には *Patched-1 (Ptch 1; Ihh* のレセプター)の遺伝子発現が認められた。一方、SAMP 8の下顎頭軟骨は軟骨細胞がまばらに散在し、*Col I*, *II*, *X*の発現の減少と成長板の層構造に著しい乱れが生じており、初期の退行性変化が認められた。さらに、*Ihh* や *Ptch 1* の発現が減少し、Hh シグナリングの減少が認められた。SAMP 8の切歯を削合し、顎関節への機能的負荷に変化を惹起させた実験群では対照群と比較して下顎頭の矮小化と形態異常が認められ、プロテオグリカンを染色する Safranin-O の染色領域が著しく減少していた。遺伝子発現解析では、削合群の *Col II*, *Ptch 1*, *Ihh*, *Aggrecan* の発現が有意に減少していたが、軟骨基質の分解に参与する *matrix metalloproteinase 13* の発現は有意に増加した。さらに、実験群では増殖層において PCNA 陽性細胞の減少と異所性の TUNEL 陽性細胞が検出された。このことは、SAMP 8の顎関節への機能的負荷を変化させることによって、下顎頭軟骨の Hh シグナリングのさらなる減少、細胞増殖活性の低下、異所性のアポトーシスの増加による関節軟骨の菲薄化とそれに伴う軟骨内骨化の亢進が生じ、退行性変化が進行したものと考えられた。

#### 4. 結 論

SAMP 8の下顎頭軟骨における初期の退行性変化には Hh シグナリングの減少が関与し、機能的負荷の変化によって Hh シグナリングの減少が促進され、退行性変化が進行することが示唆された。

### 論 文 審 査 の 要 旨

顎関節の退行性病変やその結果として起こる変形性顎関節症の発症、進行における細胞・分子レベルのメカニズムは解明されていない。本研究は、SAMP 8を使用し、下顎頭軟骨の特徴を分子生物学的に解析し、機能的負荷の変化が SAMP 8の下顎頭軟骨の退行性変化の進行と Hh シグナリングに及ぼす影響を検討した。その結果、SAMP 8の下顎頭軟骨における初期の退行性変化には Hh シグナリングが関与し、機能的負荷の変化によって Hh シグナリングの減少が促進され、退行性変化が進行することが示唆された。

本審査委員会では、1) コントロール群の設定、2) 研究方法の詳細、3) 切歯削合による顎関節への機能的負荷の内容、4) 退行性変化の定義、5) Hh シグナリングの詳細、などについて質疑ならびに討論が行われた。1) に関しては、本来であれば野生型で削合を行った対照群も設定する必要があったとの指摘に対し、今回はマウス、ラットを使用した先行研究からの知見を示していること、2) 削合方法についてはその詳細を示すこと、3) 「incision stage」における咬合力および前方転位を減少し、さらに軟食により臼歯への力が減少すること、4) 退行性変化は臨床的な用語として使用したこと、5) Hh タンパク質が Ptch 1 に作用した後の Ptch 1 レセプターについて詳細に述べること、などの回答があり、その適切性・妥当性が評価された。また、論文の構成や図表など、改善の指摘があり、後日修正された論文を審査委員が再確認した。

以上より、本研究で得られた結果は、今後の歯学の進歩、発展に寄与するところ大であり、学位授与に値するものと判定した。