

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 27 日現在

機関番号：32710

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23593004

研究課題名(和文)新規変形性顎関節症モデルマウスの確立とその有用性に関する基盤的研究

研究課題名(英文) Spontaneously developed osteoarthritis in the temporomandibular joint in STR/ort mice

研究代表者

濱田 良樹 (Hamada, Yoshiki)

鶴見大学・歯学部・教授

研究者番号：70247336

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：40週齢時に13匹中2匹のSTR/Ortマウスの片側下顎頭に変形が認められた。組織学的には関節面の軟骨層の菲薄化を伴っており、軟骨基質の減少および軟骨細胞の集簇化が認められた。変形性顎関節の軟骨層は健側と比べてTBへの染色性が減弱されていたが、関節腔内にはTBに濃染された軟骨遊離体が認められた。STR/Ortマウスの下顎頭に自然発症した軟骨基質および軟骨細胞の形態変化はヒト顎関節OAの組織像に類似しており、顎関節OAモデルとして有用である可能性が高いことが示唆された。

研究成果の概要(英文)：TMJs from 11 STR/ort mice euthanized at 30, 40, 50, 60, or 70 weeks of age, and from six CBA mice euthanized at 30, 40, or 60 weeks of age were examined. Toluidine blue and tartrate-resistant acid phosphatase staining were used to assess histological changes in the articular cartilage. Morphological changes in the articular cartilage of the TMJ were evaluated using micro-computed tomography. At the age of 40 to 50 weeks, 66% of STR/ort mice showed articular cartilage on histology, with cavitation and erosion of the exposed bone and gradual changes in condylar shape. Furthermore, osteoarthritic morphological changes, and structural alterations were observed by micro-computed tomography. The STR/ort mouse strain appears to be developed spontaneous osteoarthritis-like lesions in the TMJ with age, and would be a useful model to study the pathogenesis of TMJ osteoarthritis.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：変形性顎関節症 STR/Ortマウス 顎関節OA

1. 研究開始当初の背景

変形性関節症 (Osteoarthritis, 以下 OA) は関節軟骨の軟化、びらんを初発とする病変であり、進行すると機械的負荷により軟骨下の骨梁の反応性肥厚、微小骨折、関節軟骨が消失して骨の露出した象牙化を示す。

顎関節 OA は関節面の軟骨変性を特徴とした慢性変形性疾患で、過度な機械的負荷が加わることにより軟骨下骨が露出し、骨変形を起こし、関節部の疼痛を伴った開口障害を引き起こすとされているが、その発現機序については未だ明らかにされていない。

STR/Ort マウスは、加齢とともに膝関節の退行性変化が進行する変形性膝関節症自然発症モデルとして知られており、25~35 週齢で組織学的にヒトに類似した膝 OA を後肢に自然発症 (85%) する。

一方、本マウスの顎関節における形態的な変化については全く報告されていない。

2. 研究の目的

本研究では、自然発症変形性膝関節症(膝関節 OA)モデルマウスである STR/ort マウスに着目し、変形性顎関節症(顎関節 OA)モデルとしての有用性を探求することを目的とした。具体的には、マイクロフォーカス X 線 CT 法 (μ CT) による経時的観察により、顎関節 OA の発症頻度や発症時期を明らかにするとともに、OA 発症後の経過観察を行う。

また、 μ CT による観察時期に合わせて顎関節を組織学的に観察するとともに、OA 発症・病態進行に関わるマーカーの発現を免疫組織化学あるいは PCR 法を用いて検索する。

以上より得られた所見を膝関節と対比することで、本マウスを顎関節 OA モデルとして位置付けるための要因を明らかにすることを目的とする。さらに、本研究を通じて、顎関節 OA の発症・病態進行メカニズム解明に迫り、新たな診断・治療体系の確立を目指す。

3. 研究の方法

雄の STR/Ort マウス 11 匹を実験対象動物として用い、対照として雄の CBA/JN マウス 6 匹を使用した。

9 週齢から 60 週齢まで経時的 (STR/Ort マウス 30W1 匹、40W3 匹、50W3 匹、60W4 匹、CBA/JN マウス 30W1 匹、40W1 匹、60W4 匹) に屠殺を行い、両マウスを灌流固定し顎関節部と膝関節部の試料を得た。その後、4 の 10% EDTA 溶液にて約 8 週間、脱灰した。下顎窩と下顎頭を一塊とした顎関節部を切り出し、通法に従ってパラフィン包埋し、外側から $4\mu\text{m}$ の顎関節矢状薄切組織切片を作製し、ヘマトキシリン-エオジン (HE) 染色、トルイジンブルー (TB) 染色を実施した。

4. 研究成果

STR/Ort マウス 11 匹のうち 2 匹 (40 週齢

と 50 週齢のマウス) の片側下顎頭に骨変化を認めた。組織学的には、関節面の軟骨層が破壊され、下顎頭の表層から増殖層にいたる積層構造が不明瞭となり、分化層、肥大軟骨層の剥離、脱落を伴う骨変形を認めた。軟骨細胞の形態変化、軟骨下骨の露出も観察された。TB 染色により患側の軟骨層の染色性が減弱しており、関節腔内には TB に濃染した軟骨遊離体を認めた。

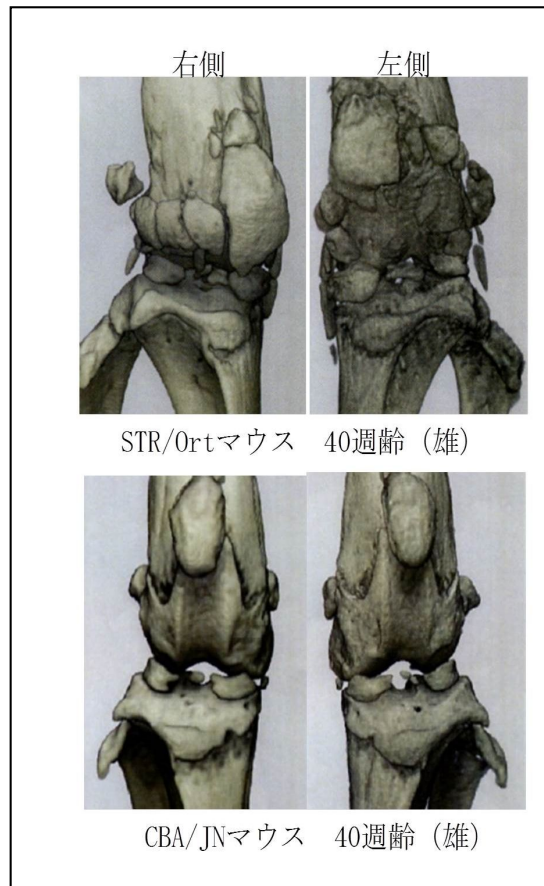


図 1 .STR/Ort および CBA/JN マウスの膝関節における μ CT 像



図2 :STR/Ort および CBA/JN マウスの膝関節におけるHE像

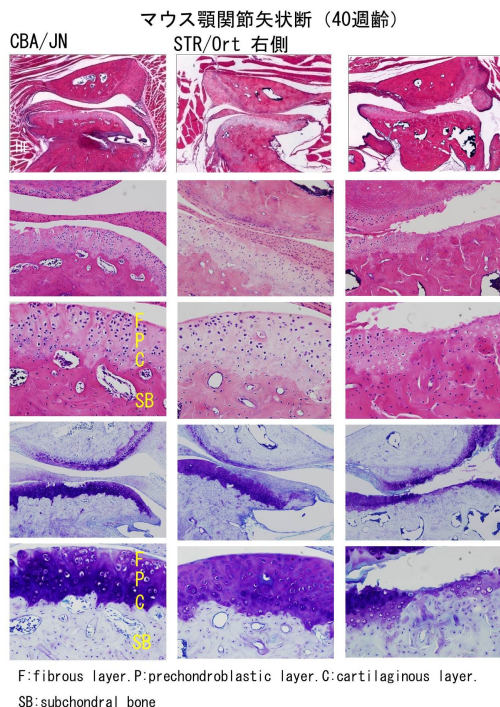
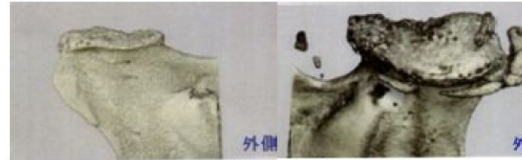


図3 : 図2 :STR/Ort および CBA/JN マウスの膝関節におけるHE像



右側 左側
CBA/JN マウス 40 週齢 (雄)



右側 左側
STR/Ort マウス 40 週齢 (雄)

図4 .STR/Ort および CBA/JN マウスの顎関節における μ CT像

正常マウスの下顎頭軟骨は 30 週齢で線維軟骨に置換され、組織学的に安定した形態となることが知られている。本マウスは、下顎頭軟骨成熟期に片側性に OA が自然発症し、組織学的にも下顎頭線維層の菲薄化や軟骨基質の減少、軟骨下骨の露出が認められていることから、ヒト顎関節 OA に類似した病態を呈していることが明らかとなった。

また、膝 OA と同時に顎関節 OA を発症していることから、本マウスでは軟骨変性に関わる遺伝子発現が存在する可能性があると考えられる。膝 OA での軟骨変性発現機序は不明な点が多く、本マウスの顎関節 OA の初期変化ならびに、発現・病態進行に関わるマーカーの検索を行うことで、ヒト顎関節 OA の発症メカニズムの解明に迫ることができると考えられる。

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)

Kenichi Kumagai, Satsuki Suzuki, Kanri, Yoriaki, Keisuke Fujii, Masahiro Wake, Ryuji Suzuki, and Yoshiki Hamada
Spontaneously developed osteoarthritis in the temporomandibular joint in STR/ort mice
International Journal of Oral & Maxillofacial Surgery, 2014, in submission

〔学会発表〕(計 1 件)

熊谷 賢一, 鈴木 さつき, 藤井 恵介, 鈴木 隆二, 濱田 良樹,
STR/Ort マウスにおける変形性顎関節症モデルとしての有用性について

第 24 回一般社団法人日本顎関節学会総会・
学術大会 2011.7.22 広島

〔その他〕

ホームページ等

<http://ccs.tsurumi-u.ac.jp/oms>

6．研究組織

(1)研究代表者

濱田 良樹(HAMADA YOSHIKI)

鶴見大学・歯学部・教授

研究者番号：70247336

(2)研究分担者

鈴木 さつき(SUZUKI SATSUKI)

日本歯科大学・生命歯学部・准教授

研究者番号：10386253

熊谷 賢一(KUMAGAI KENICHI)

鶴見大学・歯学部・助教

研究者番号：10518129