

**<学会記録II>8 . 実験的歯の移動時のラット歯周組織におけるMMP-13の局在(東日本歯学会第21回学術大会一般講演抄録)**

著者名(日)	水上 和博, 浜谷 明里, 板倉 康則, 矢嶋 俊彦, 溝口 到
雑誌名	東日本歯学雑誌
巻	22
号	1
ページ	98-99
発行年	2003-06-30
URL	<a href="http://id.nii.ac.jp/1145/00008799/">http://id.nii.ac.jp/1145/00008799/</a>

全に抑制されたが、IL-6産生は影響を受けなかった。一方、チロシンキナーゼ阻害薬（ゲニステイン、チルホスチン）やp38MAPキナーゼ阻害薬（SB203580）はTB刺激によるIL-6産生を強く抑制した。

【結論】PAR-1を介するIL-6産生は主にチロシンキナーゼおよびMAPキナーゼの活性化によって起こると考えられる。 $[Ca^{2+}]_i$ 上昇はIL-6産生の必須のシグナルではないようである。

## 7. PI3Kの制御を介して口腔扁平上皮癌細胞膜表層に発現する活性型MMP9はCD44とcomplexを形成している

○岡崎 有志, 奥村 一彦, 伊藤 昭文, 細川洋一郎\*, 柴田 考典  
(北海道医療大学歯学部口腔外科学第1講座・\*北海道医療大学歯学部歯科放射線学講座)

【目的】すでに我々は、TGF- $\beta$ 1がPI3Kシグナル伝達経路を介してSmad2とAktのリン酸化をきたし口腔扁平上皮癌細胞が産生する活性型MMP9の促進と、同基質分解酵素が癌細胞膜表層に局在することを報告した（東日本歯学会第21回学術大会, 2002年）。そこで、高浸潤性舌扁平上皮癌細胞SAS-H1を用いて癌細胞膜表層に局在する活性型MMP9の制御機構について検討した。

【方法】TGF- $\beta$ 1処理した高浸潤性舌扁平上皮癌SAS-H1細胞をビオチン化ラベルしcell lysateを調整した後、アビジンゲルでビオチン化蛋白質を回収した。これを用いて抗MMP9抗体、または抗CD44抗体による免疫沈降産物を得て、抗MMP9と抗CD44抗体によるウェスタンブロットで検討した。また、抗MMP9と抗CD44抗体による蛍光免疫染色を施行し、共焦点レーザー顕微鏡により両者の局在について観察を行った。さらに、PI3K阻害剤であるLY294002処理による影響についても検討した。

【結果および考察】TGF- $\beta$ 1処理したSAS-H1細胞膜表層をビオチン化ラベルしcell lysateを調整した後、アビジンゲルでビオチン化蛋白質を回収した。これを用いて抗MMP-9抗体ならびに抗CD44抗体による免疫沈降産物を得て、MMP-9とCD44がコンプレックスを形成していることが示された。共焦点レーザー顕微鏡による観察からも癌細胞膜上にMMP-9とCD44がともに局在することが明らかとなった。さらにPI3K阻害剤であるLY294002で処理することにより、CD44とともにMMP-9も細胞膜表層から検出されなくなった。これらの結果から、MMP-9は細胞膜上にアンカーを持たないため、CD44を介して結合しており、局所の基質分解と細胞遊走に有利に働くことが推測された。また、PI3KはMMP-9の産生とCD44の発現を制御していることが示され、癌の浸潤転移抑制を目的とした分子標的としてPI3Kが重要であることが示唆された。

## 8. 実験的歯の移動時のラット歯周組織におけるMMP-13の局在

○水上 和博\*, 浜谷 明里\*, 坂倉 康則\*\*, 矢嶋 俊彦\*\*, 溝口 到\*  
(\*北海道医療大学歯学部歯科矯正学講座・\*\*北海道医療大学歯学部口腔解剖学第一講座)

【目的】矯正学的に歯の移動を行うと、破骨細胞、骨芽細胞、線維芽細胞などの相互作用により歯周組織の改造が生じる。これら歯周組織の代謝、分解に大きく関与しているのがMMPであり、中でもコラゲナーゼに分類されるMMP 1, 8, 13は、骨中の有機成分の分解に重要な役割を果たしている。しかし、歯の移動時における歯周組織でのこれらの局在および動態は明確にされていない。そこで本研究では、実験的歯の移動時のラット歯周組織におけるMMP-13の局在および動態を明らかにし、骨改造への関与を解明することを目的とした。

【方法】実験動物として、生後8週齢のWistar系雄性ラットを用い、割田らの方法(1996)に準じ、上顎第一臼歯の近心移動および第二臼歯の遠心移動を行った。実験期間は、歯の移動開始から3, 6, 12時間, 1, 2, 4日とした。実験終了後、0.5% glutaraldehyde-4% paraformaldehyde固定液で灌流固定および浸漬固定を施した。10% EDTA溶液(4°C)での脱灰後、通法により6 $\mu$ m水平断パラフィン切片を作製した。その後、根分岐部から根尖方向に210 $\mu$ mの深さの切片を用い、抗MMP-13抗体による免疫組織化学染色を行った。なお、

観察部位は、第一臼歯の遠心頬側根近遠心歯槽骨部とした。

【結果および考察】荷重負荷後6時間までの圧迫側歯槽骨においては、ほとんど陽性反応は認められなかった。しかし、12時間ではbone lining cellsや骨基質に陽性反応が認められはじめた。1日では、強い陽性反応がbone lining cells, 骨基質の他、歯槽骨細胞にも認められ、

2日では、それらの反応に加えてMMP反応陽性部位に隣接する破骨細胞の出現が認められた。4日目以降、非常に多くの破骨細胞による骨吸収像が観察された。以上の結果より、実験的歯の移動において、主に骨吸収が生じる圧迫側歯槽骨に高いMMP-13の発現が認められ、それらのシグナルは破骨細胞の誘導と骨吸収に密接な関わりがあることが示唆された。

## 9. 下顎頭の過剰運動により惹起されたラット顎関節外傷性滑膜炎の組織学的観察

○茂尾 公晴\*, 武藤 壽孝\*, 川上 譲治\*, 入江 一元\*\*, 柴田 考典\*, 矢嶋 俊彦\*\*  
(\*北海道医療大学歯学部口腔外科学第一講座・\*\*北海道医療大学歯学部口腔解剖学第一講座)

【目的】顎関節症は臨床的には炎症所見を伴わず、慢性的に経過する疾患であるとされていたが、近年の研究からほとんどの症例において滑膜炎を主体とする微小炎症が存在することがほぼ判明している。これまで、滑膜炎発症後の経過についての観察が成されてきたが、滑膜炎成立過程に関しては十分に検討されていない。そこで、本実験では、顎関節外傷性滑膜炎の成立過程を解明することを目的とし、ラットの過剰開口に伴う顎関節滑膜組織の初期反応を観察した。

【方法】1日1度、エーテル麻酔下にラットの上下中切歯切端間距離が20mmとなる反復強制過剰開口を連続10回与えた。同処置を1日、3日、5日、7日、10日間施したラットを、それぞれその翌日に、また10日間の処置を終了したラットを5日後に屠殺し、滑膜の変化を光学顕微鏡ならびに透過型電子顕微鏡下に前頭断面で観察した。

【結果および考察】1日処置群では滑膜組織に対する過度の伸展刺激により滑膜表層下組織に炎症性細胞の浸

潤、膠原線維束の散在化を伴った浮腫性変化、すなわち滲出性炎が生じ、滑膜表層下組織の腫大に伴い滑膜表層細胞間隙は拡大し、滑膜表層下組織から関節腔に漏出が生じていると考えられた。3日処置群では肥厚したままの炎症細胞浸潤は消退傾向となり、線維芽細胞が著しく増加して膠原線維束の修復が早期に開始したものと考えられた。5日・7日処置群では肥厚を維持しつつ滑膜表層下組織の線維化が進行し、表層細胞間隙の拡大はピークを迎えたと考えられた。10日処置群・処置後5日群では、厚さは正常に回復することなく、滑膜表層下組織には細い膠原線維束が緊密に配列し、関節腔内に増加した漏出物、脱落した表層細胞を除去するため、表層細胞の貪食が亢進すると考えられた。

以上のことから、下顎頭の過剰運動により惹起された顎関節外傷性滑膜炎では、初期の滲出性炎のために腫大した滑膜が厚さを減じずに線維化し、下顎頭の安定性が減弱することが示唆された。

## 10. E.coli-derived rhBMP-2 variant/多孔質ハイドロキシアパタイト複合体による同所性硬組織形成誘導

○小林 文人, 斎藤 隆史, 小川 真史, 泉川 昌宣, 松田 浩一  
(北海道医療大学歯学部歯科保存学第二講座)

【目的】骨形成タンパク質(BMPs)は未分化間葉細胞を骨芽細胞に分化誘導し、骨形成を誘導する成長分化因子である。その強力な硬組織形成誘導活性から各分野への応用が期待されているが、徐放系となり細胞分化のためのScaffoldとなる有効な担体が見つからない。我々は生体親和性を有し積極的に象牙質形成を誘導する歯髓

保存療法剤を開発することを目標としている。本研究の目的は、Algipore<sup>®</sup>がBMPsの効果的な担体となりうるかを同所性骨誘導実験によって検討することであった。

【材料および方法】E.coli-derived human recombinant BMP-2 variant (rhBMP-2)を使用した。rhBMP-2の担体としては、多孔質ハイドロキシアパタイト顆粒であ