

ふりがな氏名	こんどう まよ 金銅 真世
学位の種類	博士（歯学）
学位記番号	甲 第 735 号
学位授与の日付	平成 26 年 3 月 7 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項に該当
学位論文題目	Celecoxib down-regulates mechanically induced ADAMTS4 gene expression in 3-D cultured tissue of human synovium-derived cells at lower concentration than indomethacin (セレコキシブはヒト滑膜三次元培養組織への機械刺激により発現上昇した ADAMTS-4 遺伝子をインドメタシンより低濃度で抑制する)
学位論文掲載誌	Journal of Osaka Dental University 第 48 巻 第 1 号 平成 26 年 4 月
論文調査委員	主査 覚道 健治 教授 副査 田中 昭男 教授 副査 森田 章介 教授

論文内容要旨

顎関節症(TMD)は顎関節・咀嚼筋の障害あるいは疾患の一つであり、TMDのなかで顎関節円板前方転位を生じるものがある。関節円板前方転位例では噛みしめ時、後方滑膜に直接力学刺激が加わる。繰り返し機械刺激はTMDにおいて重要な役割の一つであり、我々はTMDの病態を模すために、繰り返し圧縮負荷装置の開発を行った。それにより、三次元培養組織内においてマトリックスメタロプロテアーゼ(MMPs and ADAMTSs)の上昇が認められた。臨床において、変形性顎関節症の治療としてヒアルロン酸やステロイドの顎関節腔内注射あるいは経口薬として非ステロイド性抗炎症薬(NSAIDs)およびステロイドが用いられている。NSAIDsの抗炎症および鎮痛作用は知られているが、関節破壊に対する影響はいまだ明らかではない。そこで、本研究の目的は繰り返し圧縮負荷によるマトリックスメタロプロテアーゼやサイトカインのタンパクおよび遺伝子発現に対するNSAIDsの効果を調べることである。

膝関節鏡手術にて得られたヒト滑膜組織から初代培養を行い、得られたヒト膝滑膜組織由来培養細胞をcollagen gelと混和し、collagen scaffoldに播種、三次元培養組織を作製した。様々な濃度のセレコキシブ(CEL)、インドメタシン(IND)を培養液に添加し、繰り返し圧縮負荷(40kPa, 0.5Hz)を1時間与え、負荷6時間後に培養液中のタンパク濃度(PGE2)をHTRF法にて、三次元培養組織内の遺伝子発現(ADAMTS-4、ADAMTS-5、MMP-1、MMP-3)をreal time RT-PCR法にて測定を行った。

ヒト膝滑膜組織由来三次元培養組織への繰り返し圧縮負荷により、培養液中のPGE2濃度の上昇、三次元培養組織内のADAMTS-4、MMP-1、MMP-3遺伝子発現上昇が認められたが、ADAMTS-5遺伝子発現にお

いて変化は認められなかった。NSAIDs 添加により、機械刺激により発現上昇した PGE2 産生が抑制された。CEL は IND より低濃度において、圧縮負荷により発現上昇した ADAMTS-4 遺伝子を抑制した。MMP-3 遺伝子発現は IND 1、10 μ M 添加を除き、CEL 添加による変化を認めなかった。

NSAIDs は機械刺激による PGE2 産生を抑制し、CEL、IND は機械刺激によって発現上昇した、三次元培養組織内の ADAMTS-4 遺伝子発現を抑制し、CEL は IND より低濃度において、発現抑制を認めた。以上の事から、NSAIDs が PGE2 産生を抑制するのと同様に機械刺激による関節軟骨破壊の抑制効果を持つことが示唆された。

論文審査結果要旨

本論文は、ヒト滑膜三次元培養組織への機械刺激により発現上昇したタンパク、遺伝子に対する薬剤効果を検討したものである。

顎関節症(TMD)は顎関節・咀嚼筋の障害あるいは疾患の一つであり、TMD のなかで顎関節円板前方転位を生じるものがある。関節円板前方転位例では噛みしめ時、後方滑膜に直接力学刺激が加わる。繰り返し機械刺激は TMD において重要な役割の一つであり、我々は TMD の病態を模すために、繰り返し圧縮負荷装置の開発を行った。それにより、三次元培養組織内においてマトリックスメタロプロテアーゼ(MMPs and ADAMTSs)の上昇が認められた。臨床において、変形性顎関節症の治療としてヒアルロン酸やステロイドの顎関節腔内注射あるいは経口薬として非ステロイド性抗炎症薬(NSAIDs)およびステロイドが用いられている。NSAIDs の抗炎症および鎮痛作用は知られているが、関節破壊に対する影響はいまだ明らかではない。そこで、今回申請者は、繰り返し圧縮負荷によるマトリックスメタロプロテアーゼやサイトカインのタンパクおよび遺伝子発現に対する NSAIDs の効果について解析した。

膝関節鏡手術にて得られたヒト滑膜組織から初代培養を行い、得られたヒト膝滑膜組織由来培養細胞を collagen gel と混和し、collagen scaffold に播種し、三次元培養組織を作製した。様々な濃度のセレコキシブ(CEL)、インドメタシン(IND)を培養液に添加し、繰り返し圧縮負荷(40kPa、0.5Hz)を1時間与え、負荷6時間後に培養液中のタンパク濃度(PGE2)を HTRF 法にて、三次元培養組織内の遺伝子発現(ADAMTS-4、ADAMTS-5、MMP-1、MMP-3)を real time RT-PCR 法にて測定を行った。

ヒト膝滑膜組織由来三次元培養組織への繰り返し圧縮負荷により、培養液中の PGE2 濃度の上昇、三次元培養組織内の ADAMTS-4、MMP-1、MMP-3 遺伝子発現の上昇が認められたが、ADAMTS-5 遺伝子発現において変化は認められなかった。NSAIDs 添加により、圧縮負荷により発現上昇した PGE2 産生が抑制された。CEL は IND より低濃度において、圧縮負荷により発現上昇した ADAMTS-4 遺伝子を抑制した。MMP-3 遺伝子発現は IND 1、10 μ M 添加を除き、CEL 添加による変化を認めなかった。

NSAIDs は圧縮負荷による PGE2 産生を抑制し、CEL、IND は圧縮負荷によって発現上昇した、三次元培養組織内の ADAMTS-4 遺伝子発現を抑制し、CEL は IND より低濃度において、発現抑制を認めた。以上の事から、NSAIDs が PGE2 産生を抑制するのと同様に圧縮負荷による関節軟骨破壊の抑制効果を持つことが示唆された。

以上、ヒト滑膜三次元培養組織への機械刺激により発現上昇した ADAMTS-4 に対するセレコキシブおよびインドメタシンの効果について明らかにした点において、本論文は博士(歯学)の学位を授与するに値すると判定した。