

## 学位研究紹介

## ラット顎関節滑膜の発生学的研究 —抗heat shock protein 25抗体 を用いた免疫組織学的検討—

新潟大学大学院医歯学総合研究科  
顎顔面口腔外科学分野

池田 順行

Division of Oral and Maxillofacial Surgery  
Niigata University Graduate School of  
Medical and Dental Sciences  
Nobuyuki Ikeda

### 【目 的】

顎関節滑膜は、関節包内面のうち軟骨および関節円板を除いた部位を覆い、豊富な毛細血管を含む疎性結合組織である滑膜下組織と表層の滑膜表層細胞層から成る。この表層細胞層は、さらにA型細胞（マクロファージ様細胞）とB型細胞（線維芽細胞様細胞）で構成される。A型細胞は滑液中や細胞外基質の物質の吸収と消化を行う特殊なマクロファージであり、B型細胞は円滑な顎運動に重要である滑液の成分を産生することが知られている。近年の研究で、ラット顎関節B型表層細胞が、細胞をストレスから防御するタンパクであるheat shock protein25 (Hsp25)を滑膜表層において特異的に発現していることが明らかにされている。

一方、顎関節症患者は近年増加しており、その滑膜組織においてさまざまな炎症性変化が指摘されている。しかしながら、その病因については未だ不明な点が多く、その理由の一つに滑膜の解剖学および発生学的特徴が明らかにされていないことがあげられる。そこで本研究は、円滑な顎運動に重要とされる滑膜表層B型細胞に焦点をあて、その発生および動態をHsp25の光顕的、電顕的免疫細胞化学により検索した。

### 【材料と方法】

材料として、胎生17, 19, 21日、生後1, 3, 7, 15日齢の雄性ラットを用い、灌流固定後、EDTAにて脱灰を行った。作成した矢状断の連続パラフィン切片と凍結切片は、H-E染色と抗Hsp25抗体による免疫染色を行い

光学顕微鏡にて観察した。一部の試料は樹脂包埋後、準超薄切片と超薄切片を作成し、光学顕微鏡および透過型電子顕微鏡にて観察した。

### 【結 果】

胎生17日目では、関節腔は形成されておらず、Hsp25免疫陽性細胞は観察されなかったが、胎生19日目になると、下顎頭上方の関節腔相当部位で、間葉系細胞の拡大した細胞間隙にHsp25免疫陽性細胞が出現した(図1b)。胎生21日目には、上関節腔が裂隙として認められるようになり(図2a)、滑膜相当部位の表層に粗面小胞体やゴルジ装置をわずかに有する扁平で未分化なHsp25免疫陽性細胞が散在するようになった(図2b)。生後1日目になると、拡大した上関節腔の滑膜表層には、扁平な免疫陽性細胞(図3b)に加え、円形で細胞質に乏しいHsp25免疫陽性細胞が出現し(図3c)、同時に下関節腔の形成が開始された(図3a)。上関節腔後方で滑膜ヒダの形成が始まる生後3日目では、滑膜表層に配列する陽性細胞に加え、わずか深部に存在し、関節腔に細胞質突起を伸ばす免疫陽性細胞が認められるようになり、これらの細胞は粗面小胞体を豊富に有する細胞質を特徴としていた(図4)。また、この時期には、空胞や偽足状突起を有するマクロファージ様の細胞が、滑膜表層に初めて観察された(図4)。生後7日目になると、増加した免疫陽性細胞はさらに細胞内小器官を充実させ、滑膜表層に連続して配列するようになり、滑膜表層は陽性細胞の細胞体やその細胞質突起によって覆われるようになった(図5)。生後15日目になると、滑膜表層の一部では免疫陽性細胞が重層化を示し、さらに上関節腔後方では、突出した滑膜ヒダ側面を扁平な免疫陽性細胞がシート状に覆う像が観察された。

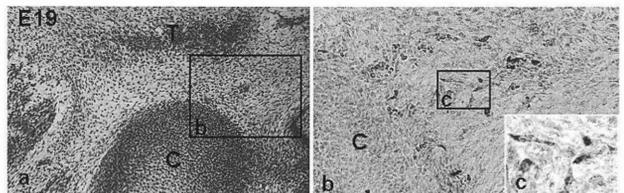


図1. 胎生19日のラット顎関節矢状断像。a: H-E染色。関節腔相当部の間葉系細胞の間隙が拡大している。b, c: Hsp25免疫染色像。下顎頭上方やや後方に陽性細胞が観察される。T: 側頭骨原基, C: 下顎頭原基

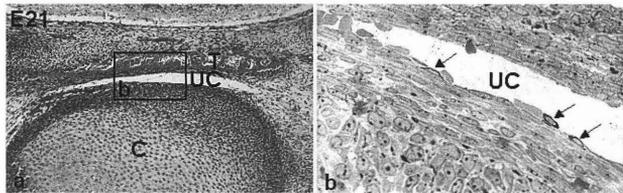


図2. 胎生21日。a: H-E染色。下顎頭上方に上関節腔 (UC) の形成が確認される。b: Hsp25免疫染色像。関節腔に面する滑膜相当部表層に、扁平な免疫陽性細胞 (矢印) が認められる。

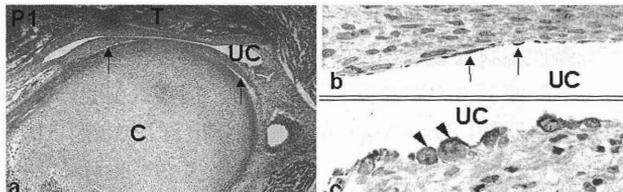


図3. 生後1日。a: H-E染色。上関節腔 (UC) が拡大し、下関節腔が裂隙として認められる (矢印)。b, c: Hsp25免疫染色像。滑膜表層に扁平な免疫陽性細胞 (矢印) に加え、円形の免疫陽性細胞 (矢頭) が観察される。

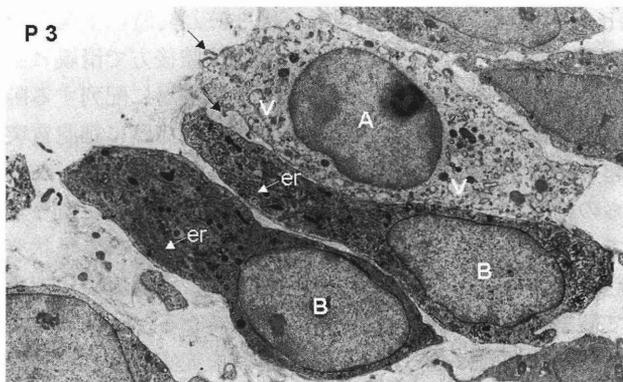


図4. 生後3日。Hsp25免疫電子顕微鏡像。免疫陽性細胞 (B) は円形で明るい核をもち、豊富な粗面小胞体 (er) を有している。免疫陰性の細胞 (A) は空胞 (v) や偽足様突起 (矢印) をもつ。

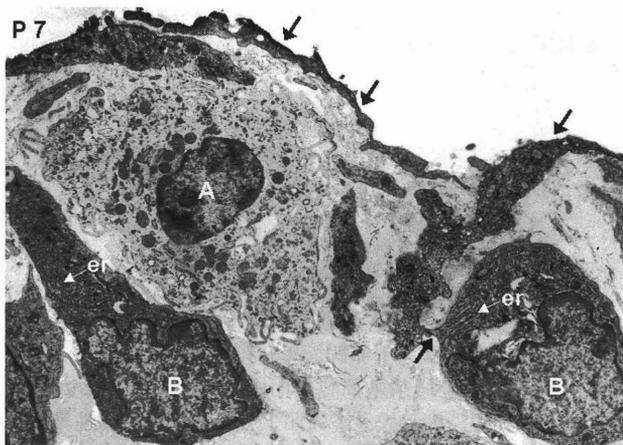


図5. 生後7日目。Hsp25免疫電子顕微鏡像。滑膜表層は免疫陽性を示す細胞 (B) の細胞質突起 (矢印) によって覆われている。

## 【考 察】

本研究結果は、上関節腔の形成開始直前の胎生19日目にHsp25免疫陽性のB型細胞が出現し、関節腔の形成に伴ってB型細胞がその表層を裏打ちするように配列していったことから、B型細胞の出現が関節腔の形成に深く関与していることを強く示唆する。また、顎運動が活発となる出生直後に、B型細胞が細胞内小器官を充実させながらその数を増し滑膜表層に配列したことから、B型細胞の分化と動態は顎運動にも深く関連していると思われる。一方、生後3日目に出現したマクロファージ様細胞はその微細構造学的特徴からA型細胞とみなされ、関節腔形成開始後に出現したことは、これまでの報告のように、関節腔形成によって生じた細胞断片などを貪食するためであると考えられる。

滑膜表層細胞の由来に関しては、A型細胞は大理石病モデルマウスにおいて欠損していることから、単球・マクロファージ由来であることが報告されているが、B型細胞に関しては間葉系細胞が直接分化するとする説や線維芽細胞が分化するとする説など様々な説が存在する。しかしながら、本研究では未分化な間葉組織中にB型細胞が出現したことから、B型細胞は間葉系の細胞から直接分化する特殊な細胞であると考えられた。

Hsp25は多機能をもつ蛋白であり、その中には細胞を熱や機械的ストレスから防御する機能や、細胞のアポトーシスを抑制する機能などがある。Hsp25免疫陽性のB型細胞が顎運動の活発化する出生後に増加することなどを考えると、Hsp25は顎運動というストレスから細胞を防御し、また、細胞のアポトーシスを抑制し、細胞の増殖・分化を調節する役割を果たしている可能性が示唆された。

Ikeda, N., Nozawa-Inoue, K. et al.: Development of the Synovial Membrane in the Rat Temporomandibular Joint As Demonstrated by Immunocytochemistry for Heat Shock Protein 25. *Anat.Rec.*, 279A: 623-635, 2004.