

学 位 研 究 紹 介

ラット顎関節におけるエストロゲンレセプター α の免疫組織化学的研究 Expression of estrogen receptor α (ER α) in the rat temporomandibular joint.

新潟大学大学院医歯学総合研究科
摂食機能再建学分野

山田 一穂

Division of Removable Prosthodontics,
Niigata University Graduate School of
Medical and Dental Sciences
Kazuho Yamada

【目 的】

顎関節症は疫学的に女性に多く、一般的に患者層は2つのピークをもつといわれ、ひとつは思春期15～25歳、もうひとつは閉経期45～55歳であると言われるが、その原因は不明であるものの、女性ホルモンの関与が容易に示唆される。また整形外科領域の関節におけるリウマチ性関節炎や変形性関節症においても、女性の罹患率が高く、その病因にエストロゲンが深く関わっていると考えられている。

エストロゲンがそのレセプターと結合することにより機能が発現し、エストロゲンレセプター (ER) はER α とER β の2つのサブタイプが存在する。

これまでの研究で、エストロゲン受容体関連タンパクとして発見された熱ショックタンパク25 (Heat shock protein 25; Hsp25) が、ラット・マウスの顎関節組織に広く発現し、顎関節滑膜では2種類の表層細胞のうちの線維芽細胞様B型細胞がHsp25免疫活性をもつことが明らかにされた。また、in situ hybridization法にてマウス顎関節滑膜の線維芽細胞様B型細胞がHsp25mRNAを有し、線維芽細胞様B型細胞自身がHsp25を産生することも報告されており、これらの研究結果は顎関節滑膜細胞層がエストロゲンの標的組織であるということを想像させる。しかしながら、エストロゲンに着目して顎関節を検索した基礎的研究は少なく、顎関節疾患とエストロゲンとの関与は未だ明らかにされていない。

本研究では、顎関節がエストロゲン標的器官であるか否かを明らかにするため、ER α の顎関節における分布を免疫組織化学的手法および免疫電顕法にて検討した。

【材料と方法】

動物には性周期による影響を避けるため、雄性Wistar系ラット4週齢を6匹用いた。0.025%グルタルアルデヒド加4%パラフォルムアルデヒドにて灌流固定を行い、顎関節を一塊として取り出し、10%EDTA溶液にて脱灰の後、通法通りパラフィン包埋した。厚さ5 μ mのパラフィン切片を作製し、H-E染色、酵素抗体法、および、蛍光抗体法による免疫染色にて観察した。また一部試料はGMAにて包埋し、Post-embedding法により、厚さ約100nmの超薄切片を作製し、免疫電顕法にて観察した。なお、蛍光抗体法の際、Propidium Iodideによる核染色も施した。

【結 果】

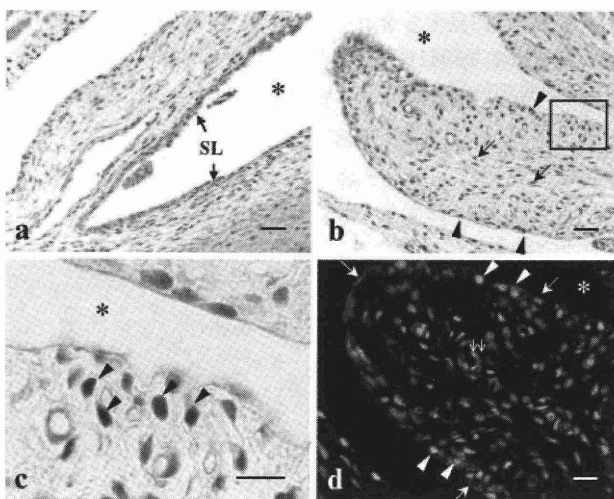


図1. 滑膜ER α 免疫染色像

前方滑膜 (a)・後方滑膜 (b) の滑膜細胞の多くがER α 陽性反応を示す。陽性細胞は表層において認められ、また陰性の細胞も認められる。c: 後方滑膜 (b) の囲みの拡大像。滑膜表層細胞においても、ER α 陽性反応 (矢頭) が観察される。

d: 後方滑膜ひだの蛍光免疫染色像。ER α 陽性反応の局在は、核に強く発現している。

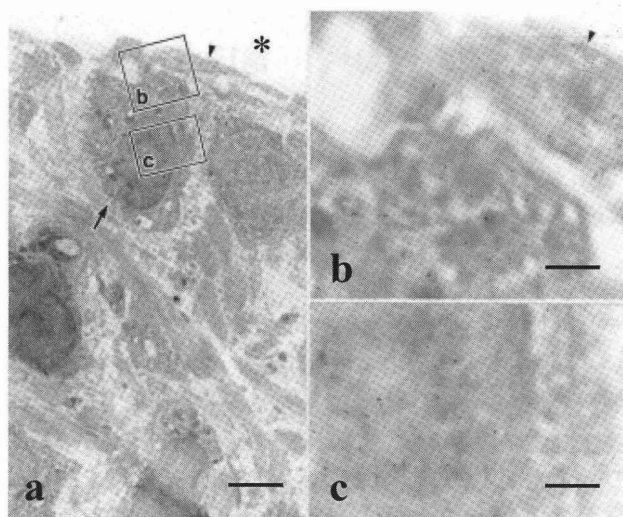


図2. 免疫電子顕微鏡像

a: ラット顎関節前方滑膜の表層細胞におけるPost-embedding法による免疫電顕像。

関節腔に面して滑膜細胞が配列し、矢印で示す細胞は、線維芽細胞様B型細胞に特有の長く太い突起を伸ばし、矢頭で示すように、その突起は滑膜表層を覆っていて、線維芽細胞様B型細胞であることがわかる。

b: 黒い点状に見える金コロイドの陽性反応が、関節腔を裏打ちする線維芽細胞様B細胞の細胞質突起に認められる。

c: 線維芽細胞様B細胞の核に金コロイドの陽性反応が多数存在している。

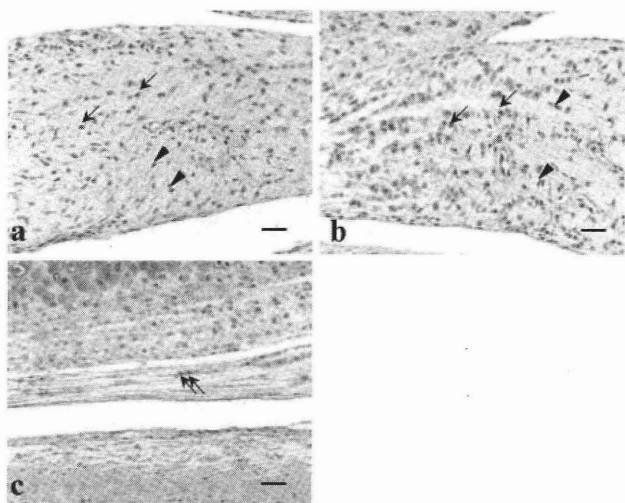


図3. 関節円板ERα免疫染色像

関節円板の前方肥厚部 (a), 後方肥厚部 (b), 中央狭窄部 (c) のERα免疫染色像。

前方肥厚部, 後方肥厚部において多数のERα免疫陽性反応が認められるが, 中央狭窄部ではほとんど認められない。

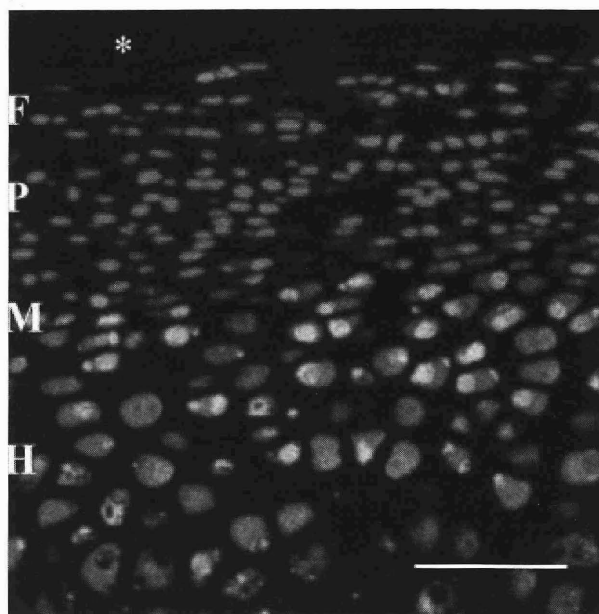


図4. 下顎頭軟骨ERα蛍光免疫染色像

下顎頭軟骨は、分化度に応じて表層の細胞から線維層 (F), 増殖細胞層 (P), 成熟細胞層 (M), 肥大細胞層 (H) の4層に分けられる。免疫染色によりその4層が明確に染め分けられ、特に成熟細胞層の軟骨細胞の核において免疫強度が高い。

【考 察】

ERα免疫陽性を示す細胞は、顎関節組織に広範に存在した。顎関節滑膜では滑膜表層細胞の一部に特に強い陽性反応が認められた。また関節円板内の軟骨細胞様細胞もERα免疫陽性を示した。下顎頭軟骨では成熟細胞層の軟骨細胞の陽性反応が最も強かった。電子顕微鏡による観察から、顎関節滑膜表層細胞の核内にERαが優位に存在し、核近傍の細胞質、また関節腔を裏打ちする線維芽細胞様B型細胞の細胞質突起にもその存在が認められた。本研究の結果から、ラット顎関節にはERαを有する細胞が多数存在し、顎関節がエストロゲンの標的器官であることが示唆された。

Yamada, K., Nozawa-Inoue, K. et al.: Expression of estrogen receptor α (ERα) in the rat temporomandibular joint. *Anat. Rec.*, 274A: 934-941, 2003