

実験材料および方法：細胞は、初代培養されたヒト歯肉線維芽細胞 (hGFs) を用いた。血中最高濃度 (Cmax) の ZA を作用させ、TGF- β 1 刺激による細胞分化能の変化および、細胞走化性を検証した。

結果および考察：まず、使用する薬剤による細胞生存率への影響を評価した。① hGFs に Cmax の ZA を 48h 作用させても細胞生存率に影響は認めなかった。

次いで、ZA が TGF- β 1 刺激による細胞の線維産生能および、運動能の変化に与える影響について検証した。② hGFs は TGF- β 1 刺激により筋線維芽細胞への分化および、タイプ I コラーゲンの産生が増加し、③細胞走化性も亢進した。ZA を前投与したところ②、③は抑制された。

そこで、ZA が TGF- β 受容体へ与える影響を検索した。④ hGFs においては ZA を作用させることで、細胞表面へ表出する受容体が減少した。

これらの結果より、hGFs は TGF- β 1 への反応性が高いことが示唆された。また、hGFs において、ZA が TGF- β タイプ I 受容体の発現を低下させることで hGFs の創部への遊走を阻害し、さらに遊走した細胞の線維産生能を抑制することで口腔軟組織の治癒遅延の一因となる可能性が示された。

2. ROCK/actin/MRTF シグナル伝達系は顎関節における顎関節滑膜細胞の線維化を促進する

ROCK/actin/MRTF signaling promotes the fibrogenic phenotype of fibroblast-like synoviocytes derived from the temporomandibular joint

○横田 聖司, 帖佐 直幸, 客本 齊子,
加茂 政晴, 佐藤 和朗*, 石崎 明

岩手医科大学 化学講座細胞情報科学分野,
岩手医科大学歯学部口腔保健育成学
講座歯科矯正学分野*

背景：TMJ-OA 発症の原因として、重度の不正咬合や顎の非対称、咀嚼筋の過剰使用により顎関節に加わる過度の機械的ストレスなどが病因と報告されている。TMJ-OA は軟骨や骨の

変性、顎関節周囲の線維症などの症状を引き起こすことが知られている (J. Dent. Res. 87: 296-307, 2008) が、発症機構については不明な点が多い。

目的：マウス顎関節滑膜より採取した培養細胞の株化を樹立することにより、TMJ-OA の症状の一つである線維症の細胞内シグナル伝達機構の解明および有効な治療薬作出のための分子研究基盤の確立を目的とする。

方法：(1) マウス顎関節滑膜より採取した初代培養細胞に不死化遺伝子 SV40LT 抗原を過剰発現させることにより、顎関節由来線維芽細胞様滑膜細胞株 fibroblast-like synoviocytes (FLS) cell line の樹立を試みた。(2) FLS 細胞の筋線維芽細胞 (myofibroblasts: MFs) への分化に Rho-associated coiled-coil forming kinase (ROCK) /actin/myocardin -related transcription factor (MRTF) を介するシグナルがどのように影響するか調査した。

結果：樹立した FLS 細胞株 FLS1 は、NIH3T3 に比べてアクチンフィラメントの形成が顕著であり、vimentin や α -smooth muscle actin (α -SMA) や I 型コラーゲンの発現が陽性であった。ROCK/actin/MRTF 経路阻害剤のうち ROCK 阻害剤 Y-27632 ならびに MRTF 阻害剤 CCG-100602 は FLS1 細胞における α -SMA 及び I 型コラーゲンの mRNA の発現を有意に低下させた。アクチン重合阻害剤 Cytochalasin B (CytB) は、FLS1 細胞における α -SMA 及び I 型コラーゲンの mRNA の発現ならびに細胞生存率を有意に低下させた。線維芽細胞増殖因子 (fibroblast growth factor: FGF) -1 は、FLS1 細胞における α -SMA 及び I 型コラーゲンの mRNA の発現を有意に低下させると共に、その細胞生存率を有意に増加させた。

結論：ROCK/actin/MRTF 経路阻害剤のうち Y-27632 ならびに CCG-100602 は線維症を抑制する薬物となりうる可能性が示唆された。CytB は FLS1 細胞の線維産生能を低下させたが、それと同時に細胞生存率も低下させたため、この細胞の線維産生能を特異的に抑制する薬物とは断言できなかった。また FGF-1 はこの細胞の線維産生能を低下させたが、局所の FLS 細胞数を増加させることにより線維症を増悪させる可能性があるため、線維症を抑制する薬物とは断言できなかった。